Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K. Holldack)
aus dem Institut für Hämatologie der GSF,
Assoziation mit EURATOM, München
(Leiter: Professor Dr. W. Stich)

DIE VERÄNDERUNG DER RETIKULOZYTENZAHL IN DER KNOCHENMARKKOAGULUMKULTUR

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Renate Regensburger

aus Berlin

1970

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K. Holldack)
aus dem Institut für Hämatologie der GSF,
Assoziation mit EURATOM, München
(Leiter: Professor Dr. W. Stich)

DIE VERÄNDERUNG DER RETIKULOZYTENZAHL IN DER KNOCHENMARKKOAGULUMKULTUR

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Renate Regensburger

aus Berlin

Dekan: Professor Dr. med. Herbert LAX
Referent: Professor Dr. med. Irene BOLL
Korreferent: Professor Dr. med. Horst BRÜCHER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 23. Juni 1970

Meinen Eltern in
Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsübersicht

EINLEITUNG 1

FRAGESTELLUNG 13

METHODE 15

ERGEBNISSE
a) Krankengeschichten 19
b) Reifungskurven 31
c) Differentialzählungen 38
d) Tabellen 51
e) Besprechung der Ergebnisse 55

DISKUSSION 57

ZUSAMMENFASSUNG 62

LITERATURVERZEICHNIS 63

E I N L E I T U N G

Als Retikulozyten werden diejenigen roten Blutkörperchen bezeichnet, in denen man bei der Vitalfärbung mit basischen Farbstoffen eine feine körnig-fädige Netzstruktur, die sog. Substantia granulofilamentosa (Sgf), erkennen kann. Von EHRLICH wurde diese Substanz 1881 zum erstenmal mit basischen Farbstoffen deutlich dargestellt und in Form von "feinen, dichten und eleganten Netzen" beschrieben (1). In der Folgezeit wurden die vitalgranulierten Zellen, abweichend von der ursprünglichen EHRLICH'schen Ansicht, z.B. von PLEHN (1899) (2) als Malariaparasiten, von STEPAN (1900) (3) als Leukämieerreger oder von ROSIN und BIBERGEIL (1904) (4) als Degenerationsformen der roten Blutkörperchen ohne physiologische Bedeutung angesehen.
Die zweite Ära der Retikulozytenforschung wurde durch eine ausführliche Arbeit von CESARIS-DEMEL (1907) (5) eingeleitet, deren Aussage durch zahlreiche italienische und französische Literaturangaben Unterstützung fand. Die Autoren konnten überzeugend nachweisen, daß es sich bei den Retikulozyten um normale junge Erythrozyten handelt; zugleich erkannten sie die regenerative Natur der Substantia granulofilamentosa und identifizierten die echte Polychromasie, die vitalen Granulationen und die basophile Punktierung als morphologische Modifikationen einer Jugendsubstanz des Erythrozyten, deren Entstehung sie vom Protoplasma ableiteten.
Auch SCHILLING (1912) (6), ENGEL (1926) (7) und SEYFARTH (1927) (8) zeigten in weiteren grundlegenden Arbeiten, daß die Retikulozyten bestimmte Reifungsstadien im normalen Reifungsprozeß eines jeden Erythrozyten charakterisieren, und hoben damit deren Bedeutung für die Beurteilung der Regeneration der Erythropoese hervor. Hiermit war auch die Grundlage einer pathogenetischen Einteilung der verschiedenen

Anämieformen gefunden; gleichzeitig wurde es möglich, die therapeutischen Erfolge verschiedener Arzneimittel durch die Retikulozytenzählung zu kontrollieren. Otto NAEGELI schrieb 1923 (9): "Für den Verlauf einer Anämie gehört die Berücksichtigung der vital granulären Retikulozyten unbedingt zu den wichtigsten Kriterien".

Die Benennung der Zellen mit Sgf war zunächst nicht einheitlich. Seit 1922 hat der Ausdruck "Reticulozyt" aus dem amerikanischen Schrifttum (10) in zunehmendem Maße auch in der deutschen Literatur Verbreitung gefunden. Von UNDRITZ (1952) (11) wurde statt der zu Verwechslungen Anlaß gebenden Bezeichnung "Retikulozyt" der Name "Proerythrozyt" vorgeschlagen, der sich aber bislang nicht durchsetzen konnte.

Die Struktur der Retikulozyten war seit ihrer Entdeckung Gegenstand umfangreicher Studien; dazu wurden die verschiedensten Untersuchungsverfahren angewandt. Man versuchte, sowohl durch Betrachtung des fixierten Materials im Licht- und Elektronenmikroskop, als auch mittels Dunkel- und Phasenkontrastbeobachtung vitaler Zellen eine Strukturaufklärung herbeizuführen.

Einige Autoren bezweifeln, daß die Sgf in ihrer charakteristischen Form als körnig-fädige Struktur in der frischen ungefärbten Zelle präformiert ist, und nehmen an, daß die Sgf erst zur Darstellung kommt, wenn die im Inneren der Retikulozyten in gelöster Form befindliche RNS beim Eintritt des Farbstoffes in die Zelle an den intrazellulären Strukturen niedergeschlagen wird (12,13,14,15,16). Dabei sind das Milieu der Lösung, der pH-Wert und die interzelluläre Farbstoffkonzentration von Bedeutung (17).

Lange Zeit wurden sehr unterschiedliche Meinungen hinsichtlich der karyogenen und plasmogenen Abstammung der Sgf vertreten; man neigt heute jedoch überwiegend zu der Ansicht (18) daß die der Sgf zugrundeliegende basophile Substanz aus Protoplasmaanteilen der kernhaltigen roten Vorstufen entsteht was die schon von EHRLICH geäußerte Ansicht bestätigt (1).

Auch RIVA (1949) identifizierte die basophile Substanz der Sgf als polychromatische basophile Substanz der jungen Erythrozyten im fixierten Blutausstrich (12).

Die Reifung der roten Zellen des Knochenmarks zu Erythrozyten geht mit einem Verlust an Nucleinsäuren einher (19). Im Verlauf der Reifung verschwindet mit dem Verlust des Zellkerns größtenteils auch die kernspezifische Desoxyribonucleinsäure (DNS), während die Ribonucleinsäure (RNS) bis zum Stadium des Retikulozyten erhalten bleibt. Die Sgf, welche den Retikulozyten morphologisch charakterisiert und die bei der weiteren Reifung ebenfalls abgebaut wird, stellt also eine RNS dar (19,20).
LINDIGKEIT (1957) konnte in Versuchen über RN-ase- und DN-ase-Aktivitäten den Beweis erbringen, daß die DNS im Retikulozyten, wenn überhaupt, so nur noch in Spuren vorhanden ist (19). Zu denselben Ergebnissen kam THORELL (21) mittels der mikrospektrographischen Methode.
Neben dem Verhalten der Retikulozyten gegenüber Farblösungen, das Hinweise auf deren Struktur gab, trugen vor allem phasenoptische Vitalbeobachtungen (22) zur Klärung des zytomorphologischen und kinetischen Verhaltens der Zellen bei. Gleichzeitig erhielt man eine gute Vorstellung von den Reifungsvorgängen im Erythroblasten.
Im Phasenkontrastmikroskop ist der Retikulozyt durch phasenpositive Granula sowie durch seine Zellmotilität gekennzeichnet. Die meist zentral gelegenen phasenpositiven Granula entsprechen den Mitochondrien und Mikrosomen des Normoblasten, die bei der Kernausstoßung in der Zelle verbleiben. Neben den kleinen kugeligen Granula sind regelmäßig netzartige Gebilde geringerer Dichte zu erkennen, die mit den körnigen Mitochondrien in Verbindung stehen. Durch Hämolyse der Zellen gelang es nachzuweisen, daß die Mitochondrien der Retikulozyten einen wesentlichen Teil der Sgf ausmachen. Mit

zunehmender Reifung nimmt die Zahl der sichtbaren Mitochondrien ständig ab, daher ist die Sgf bei den reifen Formen nur noch in Gestalt kleiner, meist peripher gelegener Granula zu finden; die zentral gelegenen verklumpten Mitochondrien fehlen im reifen Stadium ganz.
"Reife" und "unreife" Formen werden nach der Menge und Struktur der Sgf beurteilt, wobei Durchmesser und Dicke der Zellen eine weitere Differenzierungsmöglichkeit darstellen, denn letztere sind bei den reifen Formen eindeutig kleiner.
Die Plasmakontraktionen der Normoblasten, deren Steigerung zu heftigen Konvulsionen letztlich die Kernausstoßung bewirken, hören nach vollzogener Entkernung nicht plötzlich auf, sondern sind auch im Retikulozyten noch nachweisbar; hier werden sie jedoch im Verlauf der Reifung schwächer. Nach Befunden von RIND und STOBBE (1959) (23) entspricht die Motilität der Zelle der noch sichtbaren Menge der Mitochondrien. Während beim unreifen Retikulozyten unregelmäßige wellenartige Bewegungen über das Plasma ablaufen, sind bei der reifen Zelle, die kaum noch Beweglichkeit zeigt, nur noch kleine seitliche Einkerbungen zu beobachten. Der Erythrozyt als Endstufe der Entwicklung besitzt weder Sgf noch Eigenmotilität; auf seiner Membran sind oberflächliche Undulationen gerade noch wahrnehmbar. Sie wurden von BLOWERS als "flicker phenomen" bezeichnet (24).

Zwischen Retikulozyten und Erythrozyten bestehen nicht nur morphologische, bzw. färberische Unterschiede, auch das Stoffwechselverhalten der granulierten Zellen ist wesentlich verändert. Schon im Normoblastenstadium verliert die rote Zelle die Fähigkeit zur DNS- und RNS-Synthese und damit zur weiteren Reduplikation; hier beginnt also bereits die "Alterung" im weiteren Sinne (25). Trotzdem ist der Retikulozyt während seiner Ausreifung noch in geringem Umfang zu Syntheseleistungen befähigt. Er verfügt über eine aktive Atmung mit einem

intakten Pasteureffekt (26). MORAWITZ (1909) (27) und WARBURG (1909) (28) stellten bei Inkubation von retikulozytenreichem Blut einen deutlich erhöhten O_2-Verbrauch fest, was HEILMEYER und WESTHÄUSER (1932) (29) bestätigten.
Aus den Untersuchungen von RAPOPORT (1957) (30) geht hervor, daß die Atmungsaktivität der Retikulozyten etwa 50 mal grösser ist als die der Erythrozyten, doch um etwa eine Größenordnung kleiner als die aktiver Gewebe (z. B. Hirnrinde). RAPOPORT (1957) (30) konnte zudem noch eine Reihe aktiver Fermentsysteme (Atmungskette, Citronensäurecyclus, Succinatoxydase) nachweisen.
Ferner findet in den Zellen ein lebhafter Umbau stickstoffhaltiger Substanzen statt. Die Nucleinsäuren werden durch Ribonucleasen gespalten (31), deren Aktivierung die Funktion eines bestimmten Retikulozytenstadiums darstellt. Die proteolytischen Enzyme weisen im Vergleich zu reifen Erythrozyten deutlich erhöhte Aktivitäten auf, die während der Reifung in spezifischer Weise abnehmen. Den Untersuchungen von SCHWEIGER, RAPOPORT und SCHÖLZEL (1958) (32) ist zu entnehmen, daß sie die "aktive Proteolyse" der Stromaeiweiße und wahrscheinlich auch struktureller Enzyme katalysieren. Die Proteolyse wird durch Proteinasewirkung limitiert und ist insofern auch zeitlich begrenzt, als sie mit der Ausreifung der Zellen nahezu sistiert (33). Die beim Abbau der Zellproteine freigesetzten Aminosäuren werden zum Teil für die Globinsynthese verwertet oder sie dienen als endogenes Substrat der Retikulozytenatmung, da nur etwa 20% des gebildeten Gesamt-CO_2 aus Glucose stammen (34,35).
Nach Einführung der radioaktiven Isotope ^{59}Fe und ^{14}C in Glycin verfolgten WALSH, THOMAS, CHOW und FINCH (1949) (36) erstmalig in Versuchen den Einbau von ^{59}Fe in die Retikulozyten und zogen daraus den Schluß, daß die ^{59}Fe-Aufnahme ein Zeichen für die Hb-Synthese im Retikulozyten sein könnte.

Auch die direkte Bestimmung der Hb-Zunahme durch SCHWEIGER und RAPOPORT (20, 30) deutete auf eine Hb-Synthese im Retikulozyten hin. Den Beweis, daß die granulierten Zellen Eisen aufnehmen und enzymatisch mit Protoporphyrin zu Häm vereinigen, lieferten jedoch erst autoradiographische Untersuchungen (37, 38, 39).

Die Mikrosomen, die der Retikulozyt in größerer Menge besitzt, sind in die Synthese des Häm einmal durch direkte Fe-Inkorporation in das Molekül wie auch durch die Bildung einer Hb-Vorstufe eingeschaltet. Die Freisetzung dieser Vorstufe wird durch ATP (Adenosintriphosphat) gesteigert.

Im Retikulozyten wird jedoch nicht nur die prosthetische Gruppe (40), sondern auch die Globinkomponente (41) des Hb-Moleküls synthetisiert, ein Vorgang, der an den Ribosomen abläuft. Dabei entspricht die Bildung von Häm quantitativ der des Globins; zeitlich verlaufen beide Vorgänge jedoch nicht kongruent.

Die Proteinsynthese erfolgt wahrscheinlich in zwei Schritten, die durch je eine Enzymfraktion katalysiert werden:

a) Zunächst kommt es zur labilen Fixierung der Aminosäuren auf den Ribosomen; die Reaktion ist GTP-(Guanidintriphosphat) abhängig.

b) Erst der zweite Schritt führt zur Errichtung einer Peptidkette.

Für die Eiweißsynthese ist der große Gehalt an RNS im Retikulozyten von besonderer Bedeutung (42, 43, 44). Die Proteinsynthese und der RNS-Abbau sind im Retikulozyten auf der Stufe der Aminosäurenverknüpfung in den Polysomen gekoppelt (20); beide Prozesse zeigen eine auffällige Parallele, die besonders dadurch deutlich wird, daß Aminosäuren auf beide Vorgänge einen fördernden Einfluß nehmen (20). Die Retikulozyten verlieren während der Reifung die gesamte RNS, wobei der RNS-Abbau in Form einer Aufspaltung der Polysomen in monomere Ribosomen vollzogen wird. Dabei spielen nicht nur

abbauende Enzyme, z.B. RN-asen, eine wichtige Rolle, sondern es besteht auch eine starke Energie-Abhängigkeit des Prozesses. SCHWEIGER (1964) (20) und ROST (1962) (45) konnten zudem bestätigen, daß das Verschwinden der Sgf dem RNS-Abbau parallel läuft.
Die Aufspaltung der Polysomen und der anschließende RNS-Abbau, d.h. die Reifung, stehen in einem engen Zusammenhang mit dem Verlust der Fähigkeit zur Aminosäure-Inkorporation (20).
SCHWEIGER (1964) (20) kam aufgrund seiner Experimente zu der Annahme, daß die Hb-Synthese und der RNS-Abbau wechselseitig voneinander abhängen, wobei zumindest eine der an der Proteinsynthese beteiligten RNS-Fraktionen zum limitierenden Faktor der Hb-Synthese wird, während umgekehrt die Hb-Synthese den RNS-Abbau verstärkt.
Die intensive Hämoglobinbildung, die laut FICHSEL und WEIKKER (1960) (46) in den jüngeren Retikulozyten rascher abläuft als in den reifen Formen und ein Maximum auf der Stufe des frühen polychromatischen Erythroblasten erreicht, kennzeichnet somit die Differenzierung der roten Zelle.
Auch die Synthese von Purin- (47) und Pyridin-Nucleotiden (48) sowie von Pyrimidinen (49) und Lipiden (50) wurde im Retikulozyten nachgewiesen.

Man erkannte schon sehr früh, daß die Werte der Retikulozytenzählungen ganz wesentlich durch die Färbe- und Ausstrichtechnik beeinflußt werden. Die älteste Methode der vitalen Färbung am peripheren Blutausstrich wurde von ARNOLD angegeben. Während ARNOLD, PAPPENHEIM, DEETJEN und WOLFF (51) noch ausschließlich mit Methylenblau arbeiteten, hielten LEVADITI (1901) (52) und CESARIS-DEMEL (1907) (5) Brillantkresylblau für den geeigneteren Farbstoff. Dieser wurde später auch von SCHILLING (1912) (6) und SEYFARTH (1927) (8) benutzt. Die ersten Zahlenangaben sind recht unterschiedlich;

ROSIN und BIBERGEIL (1904) (4) sahen 20‰ als Normalwert an; dagegen fanden SEYFARTH und SCHILLING (1927) (8) Zahlenwerte von 1-2‰; ENGEL (1926) (53) von 5-20‰ und COHN (1926) (54) von 0-4‰.
HEIMPEL (1968) (18) ermittelte mit einer sehr einfachen und üblichen Färbemethode mit Brillantkresylblau einen Normalwert von 5-20‰ und fand nach mehrmaliger Zählung Schwankungen bis zu 30‰ beim normalen Mittelwert.
Zur Vitalfärbung wird im allgemeinen ein Objektträgerausstrich angefertigt und der relative Anteil der Retikulozyten bestimmt, der auf 1000 ausgezählte Erythrozyten entfällt. Die Dunkelfeldbetrachtung der Präparate (12, 55) bringt den Vorteil, daß auch noch die reifsten Zellformen mit sehr schwacher Granulation gut sichtbar werden. Bei den von FRIEDLÄNDER (1929) (56) und FRANKE (1931) (57) beschriebenen Zählkammerverfahren werden die Retikulozyten in der Volumeneinheit Vollblut ermittelt. LANGENDORFF und REISSNER (58) sowie auch BERLIN (59) stellten bei ihren Zählungen eine mehrtägige Periodik der Retikulozytenschwankungen fest, dagegen konnten systematische tageszeitliche Schwankungen nicht nachgewiesen werden (60).
Das Retikulozytenstadium wird heute von den meisten Autoren (SEIP, RIDDLE, NIZET, NIVEN und NEUBERGER) (60, 61, 62, 63) als obligate Übergangsform bei der Ausreifung vom Erythroblasten zum Erythrozyten angesehen. Dabei wird der Vorgang der Erythroblastenentkernung als Kernausstoßung (BESSIS, RIND) (15, 64), als intrazelluläre fermentative Kernauflösung (HEILMEYER, NAEGELI) (29, 9) oder als Ablösung eines Plättchenkerns (SCHILLING) (6) diskutiert. Während einige Autoren bezweifeln, u.a. FORSSELL (65), BESSIS (15) und JONES (66), daß die Erythroblasten bei ihrer Ausreifung überhaupt ein Retikulozytenstadium durchlaufen, nimmt ROHR (67) an, daß ein Teil der Erythrozyten im Knochenmark ausreift, ohne als Retikulozyten ins Blut zu gelangen.

Auf die unterschiedliche Dichte der Strukturen der Sgf in den Retikulozyten wurde schon frühzeitig hingewiesen, wobei man gleichzeitig verschiedene Einteilungen vornahm. CESARIS-DEMEL (5) unterschied zwei Formen, wobei er die "Ringform" dem Knochenmark, die "Netz- und Fadenform" dem peripheren Blut zuordnete. ENGEL und SEYFARTH (7, 8) wie auch GAWRILOW (68) gaben bereits vier Gruppen an und kamen damit der heute üblichen Einteilung am nächsten.
Eine auch heute noch gebräuchliche Klassifizierung der Retikulozyten wurde von HEILMEYER und WESTHÄUSER (1932) (29) nach morphologischen Kriterien eingeführt. Gleichzeitig wiesen sie wie auch HEATH und DALAND (69) bei Inkubationsversuchen in vitro nach, daß die morphologisch unterscheidbaren Retikulozytenformen physiologischen Reifungsstadien entsprechen, die nacheinander durchlaufen werden. Dieser Reifungsvorgang stellt einen aktiven Stoffwechselprozeß dar, denn mit dem Aufhören der Atmungsvorgänge tritt ein Reifungsstillstand ein. FICHSEL (70) nahm an, daß die starke Atmung der Retikulozyten vorwiegend die Energie liefert, die für die synthetischen Prozesse benötigt wird.
Die Klassifizierung von HEILMEYER und WESTHÄUSER (29) erfaßt folgende Retikulozytengruppen:
a) Zur Gruppe O gehören die kernhaltigen Retikulozyten, bei denen die Sgf den Kern wie ein dichtes Netz umgibt; sie kommen normalerweise nur im Knochenmark vor.
b) Bei der Gruppe I (Knäuelform), die wie alle reiferen Formen keinen Kern mehr enthält, liegt die Sgf als dichtes Knäuel in der Mitte der Zelle; im peripheren Blut kommen sie selten, im Knochenmark in größerer Zahl vor.
c) Im Stadium der Gruppe II (Netzform) lockert sich das Knäuel auf und die basophile Substanz breitet sich als lockeres Netz über die ganze Zelle aus.
d) Bei den Zellen der Gruppe III (unvollständige Netzform) ist das Netz bereits in Auflösung begriffen; man sieht neben

einzelnen Granula kleinere Netzstücke in unregelmäßiger Verteilung. Im Blut beträgt der Anteil dieser Gruppe etwa 30%.
e) Die Gruppe IV (Körnchenform) findet man am häufigsten an der Peripherie; bei ihr ist die Sgf nur noch in vereinzelten Körnchen anzutreffen.
Von RIVA und HAENEL (12, 55) wurden im Dunkelfeld noch reifere Formen beobachtet, die lediglich kleine, z.T. wandständige Granula enthielten; sie sind in die Einteilung von HEILMEYER nicht einbezogen.
Nach der Menge der Sgf werden die Gruppen 0, I und II als unreife, die Gruppen III und IV als reife Zellen bezeichnet.
Den Arbeiten von UNGRICHT (1938) (71) ist zu entnehmen, daß normalerweise der Anteil der unreifen Formen im Knochenmark größer ist als im peripheren Blut, während sich bei gesteigertem Erythrozytenumsatz nicht nur die Retikulozytenzahl, sondern auch der periphere Anteil der unreifen Formen erhöht.

JUNG, RIND und STOBBE (1958) (72) fanden bei elektronenoptischen Untersuchungen am Kaninchenblut sogenannte "Pseudoretikulozyten", Zellen, die nach Färbung mit Brillantkresylblau wie Retikulozyten aussahen. Es handelte sich dabei um ausgereifte rote Zellen, die durch Phenylhydrazin geschädigt waren.
Die sogenannten Achromoretikulozyten stellen wahrscheinlich hämoglobinarme Erythrozytenschatten dar, in denen sich das Stroma teilweise sichelförmig zusammengezogen hat; während ROHR (1960) (67) sie als labile Retikulozyten im Zustande der Hämolyse wertete, wurden sie von UNDRITZ (1952) (11) als Artefakte angesehen.

Eine Vermehrung der Retikulozyten im peripheren Blut findet man vor allem nach Blutungen, bei hämolytischen Erkrankungen und in der regenerativen Phase therapeutisch beeinflußbarer

Anämien. Die höchsten peripheren Werte bis zu 800‰ wurden bei angeborenen hämolytischen Anämien gefunden, eine Erniedrigung der Werte liegt seltener vor, z.B. bei einem Teil der aplastischen Anämien. Ein völliges Fehlen der Zellen wurde bei der vollständigen Erythroblastophthise beobachtet.

Die periphere Retikulozytenzahl kann auch dadurch erheblich variieren, daß die Verweildauer der Retikulozyten im Mark geändert wird. Bei einer konstanten Gesamt-Reifungsdauer wird z.B. durch die Verkürzung der Mark-Reifungszeit von zwei Tagen auf einen Tag die periphere Retikulozytenzahl bereits verdoppelt, ohne daß damit etwas über die Regenerationsleistung der Erythropoese ausgesagt wird.

Auch die Angaben über die mittlere Reifungszeit der Retikulozyten, die die Zeitspanne von der Erythroblastenentkernung bis zum Verlust der Sgf umfaßt, variieren sehr. HEIMPEL (1968) (18) berechnete bei einer mittleren Erythrozytenlebensdauer von 110 - 120 Tagen und einer relativen Retikulozytenzahl von 5-15‰ eine Reifungszeit von 20 - 40 Stunden. SCHWEIGER (1964) (20) kam mit 40 Stunden zu ungefähr demselben Ergebnis. WEICKER und FICHSEL (46) ermittelten theoretische Reifungszeiten in vivo von 4 - 5 Tagen, dabei wurde allerdings die wahrscheinlich nicht zutreffende Hypothese einer Retikulozytenteilung zugrunde gelegt.

Dagegen schwanken die bei Reifungsstudien in vitro gefundenen Zeiten von einigen Stunden (BALDINI und PANACCIULI) (73) über 1 - 2 Tage (HEILMEYER) (29) bis zu 2 - 4 Tagen (RIDDLE) (61). NINNI (74) ermittelte mit 4 - 6 Tagen die längsten Reifungszeiten.

RAPOPORT und STRASSNER (1959) (75) gelang es nachzuweisen, daß verschiedene Faktoren des Inkubationsmilieus, wie z.B. der pH-Wert, die Phosphatkonzentration und der Verdünnungsgrad der Suspension, die experimentell ermittelte Reifungszeit beeinflussen, so daß die Ergebnisse in vitro nicht quantitativ auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden können.

Ob den von PLUM (1942) (76) beschriebenen Reifungsfaktoren in Plasma oder Geweben eine physiologische Bedeutung zukommt, ist fraglich, da sein Befund von anderen Autoren nicht bestätigt werden konnte.
Bei vergleichender Betrachtung der Retikulozytenzahl und der Erythrozytenlebensdauer ergaben sich immer wieder Diskrepanzen, welche pathologische Veränderungen der Reifungsgeschwindigkeit bei bestimmten Erkrankungen nahelegen.

FRAGESTELLUNG

Die Retikulozytenzahl im peripheren Blut wird allgemein als Maßstab der Erythrozytenabgabe aus dem Knochenmark an das Blut angesehen, womit eine orientierende Beurteilung der Erythrozytenproduktion möglich ist. Während sich in der Literatur viele Arbeiten mit Retikulozytenzählungen peripherer Blutausstriche befassen, finden sich nur wenige Angaben über die Bestimmung der Knochenmarkretikulozyten.
UNGRICHT (71) errechnete aus Markaspirat und Marktrepanat eine Relation von Markretikulozyten zu Blutretikulozyten und versuchte anhand dieser Rückschlüsse auf die absoluten Markretikulozytenzahlen zu ziehen; dagegen ermittelte SEIP (60) mit Hilfe komplizierter Formeln prozentuale Relativwerte der Markretikulozyten.
Da es mit einer in unserem Labor entwickelten Färbemethode gelungen war, Retikulozyten in Knochenmarkausstrichen darzustellen, wurde in der vorliegenden Arbeit der Versuch gemacht, die durch Zählung erhaltenen Absolutwerte zu verschiedenen Krankheitsbildern in Bezug zu setzen. Darüber hinaus bot sich an, die Produktion von Retikulozyten während der 3-Tage-Kulturdauer zu verfolgen. BOLL und MERSCH (77) fanden in vitro eine schnelle Ausreifung der Erythropoese, die in einer Rechtsverschiebung und später sogar in einer relativen Abnahme der Erythroblasten zum Ausdruck kommt. Wir hofften nun darstellen zu können, daß die Retikulozyten entsprechend der Ausreifung zunehmen, denn die Abwanderung ins Blut entfällt in vitro. Günstigstenfalls würden sich mit der Retikulozytenzählung während einer Kulturdauer von 72 Stunden Aussagen über die Durchgangszeit der Retikulozyten unter normalen und pathologischen Bedingungen ergeben.
Zur Durchführung der Arbeit standen 12 Sternalpunktate zur Verfügung, darunter drei Gruppen von Analogfällen. Prinzipiell war es daher möglich, neben der Betrachtung und Auswertung eines jeden Einzelfalles, einerseits über sämtliche Fälle zu

mitteln und andererseits aus der Gesamtzahl bestimmte Einzelfälle herauszugreifen und gegenüberzustellen. Letzteres lag besonders für die Analogfälle nahe. Einer Mittelung über alle Fälle konnte nur dann von vornherein eine größere Bedeutung beigemessen werden, wenn die Einzelfälle hinsichtlich der erhaltenen Zählergebnisse, d.h. der Gesamtretikulozytenzahl, der Anteile der Einzelstufen und der entsprechenden Veränderung innerhalb der untersuchten Zeitintervalle übereinstimmende Ergebnisse zeigten. Nach Zählung der Retikulozyten schien daher folgender Weg der Auswertung sinnvoll zu sein:

a) Auswertung eines jeden Einzelfalles;
b) Gegenüberstellung der Analogfälle;
c) Gegenüberstellung der verschiedenen Analogfälle;
d) Bildung eines Gesamtmittelwertes, wenn obige Voraussetzung gegeben ist.

METHODE

Um morphologische Veränderungen an Knochenmarkzellen in vitro über mehrere Tage verfolgen zu können, sind besondere Kulturen erforderlich. Zur Züchtung des menschlichen Sternalmarkes wurde die Methode von BOLL (78) benutzt, die in Anlehnung an die CARREL'sche Technik entwickelt wurde.

Das Nährmedium für die Kulturen setzt sich zusammen aus:
50% Nativplasma des Patienten, dessen Knochenmark kultiviert werden soll,
10% Corhormon^{R} (Fa. Homburg), 3-fach verstärkt,
40% Hank'scher Lösung.
Das Blutplasma, das zur Gerinnung notwendig ist, wird mit Corhormon und Hank'scher Lösung gut gemischt. Jeweils ein Tropfen dieses Mediums wird in staubfreiem Milieu unter handsterilen Bedingungen auf die handelsüblichen Objektträger gebracht und ausgezogen.
Zur Gewinnung des Nativplasmas wird dem nüchternen Patienten 1 - 6 Stunden vor der Sternalpunktion Venenblut direkt in ein silikoniertes, steriles und in Eis verpacktes Zentrifugenröhrchen abgenommen und danach gut verschlossen bis zum Absetzen des Plasmas im Kühlschrank aufbewahrt. Gleichzeitig wird Blut zur Serumgewinnung benötigt; dieses wird nach der Gerinnung 5 Minuten lang zentrifugiert.
Das später gewonnene Knochenmarkpunktat fängt man zunächst in Heparinlösung auf; dann wird ein Knochenmarkbröckel vorsichtig unter sterilen Kautelen auf das geronnene Nährmedium gesetzt und mit einem kleinen Serumtropfen bedeckt. Hiernach befestigt man einen 4 mm dicken Hohlschliffobjektträger auf dem Objektträger durch zwei seitlich aufgebrachte Vaselinetupfen. Die Kultur wird durch Bestreichen der Objektglasränder mit flüssigem Hartparaffin luftdicht abgeschlossen, umgedreht, so daß der Tropfen hängt und bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt.

Neben dem Originalausstrich des Sternalpunktates fertigt man von den im Brutschrank inkubierten Kulturen nach 24, 48 und 72 Stunden je zwei Ausstriche an.
Die Präparate werden nach dem Ausstreichen zunächst luftgetrocknet, dann zur Fixierung etwa 1 - 2 Minuten in Methanol gestellt und anschließend noch einmal 20 Minuten luftgetrocknet, um den Alkohol abzudunsten. Die nun folgende Färbung dauert etwa 5 Minuten. Um Farbrückstände zu entfernen, tupft man das Präparat nach der Färbung leicht ab.
Die Farblösung wird wie folgt hergestellt:
Für die Farbstoffstammlösung werden 200 mg Brillantkresylblau in 100 cm^3 "Lösungsmittel" gelöst.
Das "Lösungsmittel" ist eine annähernd neutrale, etwa blutisotone Lösung von Formalin, Kochzucker und Bikarbonat in destilliertem Wasser. Für je 100 cm^3 "Lösungsmittel" werden 12 g Kochzucker mit aqua dest. vorgelöst und 10 ml 40%-iges Formalin zugefügt. Mit verdünnter Bikarbonatlösung wird der pH-Wert auf etwa 7,2 eingestellt und die Lösung mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Als Färbelösung wird eine mit Lösungsmittel auf das 10-fache verdünnte Farbstoffstammlösung verwendet.
Die konzentrierte Farbstoffstammlösung scheint unbegrenzt haltbar zu sein, wenn sie in braunem Glas aufbewahrt wird. Die verdünnte Färbelösung verliert nach etwa einem Monat deutlich an Färbekraft, was vermutlich durch die Oxydation des Formaldehyds zu Ameisensäure bedingt ist. Zur Verdünnung der Farbstoffstammlösung muß daher jeweils frisch zubereitetes Lösungsmittel benutzt werden.
Von dem besseren der beiden Ausstriche wurden 500 Zellen der roten Reihe (Erythroblasten und Retikulozyten) sowie der darauf entfallende Zellanteil der weißen Reihe ausgewertet. Zur exakten Differenzierung der Zelltypen wurden regelmäßig die Randgebiete der Kulturen mit aufgelockertem Zellgehalt gewählt.

Die rote Reihe wurde differenziert in:

a) Proerythroblasten,
basophile Erythroblasten,
polychromatische Erythroblasten,
reife Erythroblasten.

b) Retikulozyten: Gruppe 0, I, II, III, IV.

Die Zelltypen der weißen Reihe wurden nicht einzeln differenziert, sondern lediglich in reife und unreife Formen unterteilt.

Die jüngste Zelle der Erythropoese ist der Proerythroblast. Im Brillantkresylblau-Präparat hat der rötlich-blaue, runde Kern ein feinkörniges Chromatinnetz. Er ist gleichmäßig von einem grünlich-blauen schmalen Zytoplasmasaum umgeben, der oft an einer Stelle eine Aufhellungszone zeigt.

Der kleinere basophile Erythroblast besitzt eine grobschollige Kernstruktur, wobei oft ein radspeichenähnliches Bild entsteht. Das Zytoplasma ist grünlich-blau.

Der Kern des polychromatischen Erythroblasten ähnelt dem des basophilen Erythroblasten. Die Farbe des Zytoplasmas wird durch die Hämoglobineinlagerung bestimmt und variiert je nach dem Reifegrad zwischen grünlich-blau und hellgrün.

Die Kernstruktur des oxyphilen Erythroblasten ist verdichtet, das homogene Zytoplasma hat die wässrig-blaue Farbe der Erythrozyten.

Der reife Erythroblast besitzt einen tiefblauen, pyknotischen, meist exzentrisch gelegenen Kern ohne erkennbare Struktur, der jedoch nicht von Sgf umgeben ist wie der Kern der Gruppe 0 der Retikulozyten. Die Zytoplasmafarbe dieser Zelle entspricht der des oxyphilen oder polychromatischen Erythroblasten.

Die Retikulozyten wurden nach der Einteilung von HEILMEYER (29) differenziert in die Gruppe 0, I, II, III und IV:

Bei der Gruppe 0 wird der kleine dunkelblaue, meist exzentrisch gelegene Kern von den tiefblauen Granula der Sgf

dicht umgeben. Der Zytoplasmasaum zeigt bei allen Stufen eine wässrig-blaue Farbe, die je nach Grad der Hämoglobineinlagerung einen grünlich-blauen Ton annehmen kann.
Bei den Zellen der Gruppe I ist kein Kern mehr vorhanden, die dunkelblauen Granula der Sgf liegen dicht zusammengelagert in der Mitte der Zelle.
Bei der Gruppe II liegen die Granula der Sgf nicht mehr dicht zusammen, die basophile Substanz ist netzartig über die ganze Zelle verteilt.
Im Stadium der Gruppe III ist die basophile Substanz nicht mehr gleichmäßig über die ganze Zelle verteilt, hier finden sich vielmehr einzelne Granula und kleinere Netzstücke in unregelmäßiger Anordnung.
Bei der Gruppe IV finden sich nur noch vereinzelte Granula, die vornehmlich an der Peripherie des Retikulozyten liegen.

Aus den Zählungen wurden Retikulozytenreifungskurven aufgestellt; zudem wurde in Tabellenform der G/E-Index sowie das Verhältnis von Retikulozyten zu Erythroblasten angegeben. Die Reifungskurven geben die prozentuale Verteilung der Zellformen während der Kulturzeit wieder, wogegen der G/E-Index das relative Verhalten der Granulopoese zur Erythropoese ausdrückt.

Die mikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem Hellfeldmikroskop der Firma Zeiss bei 100-facher Vergrößerung und Ölimmersion durchgeführt.

In die Untersuchung wurden folgende Patienten aufgenommen:

Patient Sch., H. (Fall 1)

Einweisung: 6.9.1968

Diagnose: Hohe BSG, evtl. Prostata-Carcinom, evtl. Systemerkrankung, Plasmocytom.

Knochenmark-Diagnose: Regelrechtes Knochenmark bis auf etwas angeregte Erythropoese.

Therapie bis zur Sternalpunktion: (23.7.1968)

	10 mg Valium^{R}	(Beginn 4.7.)
3 mal	20 Tr. Novalgin^{R}	
	2 Tabl. Lanicor^{R} 0,5 mg	(Beginn 4.7.)
2 mal	1 g Paraxin^{R}	(4.7. - 10.7.)
	20 ml Novocain^{R}	(am 18.7.)
	4 ml Impletol^{R}	(am 17. u. 21.7.)

Blutbild: (29.7.1968)

Erythrozyten	3,81	Mill/mm^3
Hb	12,0	g%
H_{b_E}	31,5	γγ
Retikulozyten	21	‰
Leukozyten	9	100/mm^3
Stab	1	%
Seg	77	%
Lympho	19	%
Mono	2	%
AMZ	1	%
Thrombozyten	336	000/mm^3

Patient W., G. (Fall 2)

Einweisung: 1.8.1968

Diagnose: cerebrales Anfallsleiden, allgemeine Gefäßsklerose, hohe BSG.

Knochenmark-Diagnose: etwas angeregte Erythropoese, Plasmazellvermehrung noch reaktiv.

Therapie bis zur Sternalpunktion: (15.8.1968)

Zentropil^{R}	3 mal 1 Tbl.	(Beginn 8.8.)
Lanicor^{R}	0,5 mg	(Beginn 8.8.)
20 Tr. Paracodin^{R}	1 Eßl. Liqu. pect.	(Beginn 12.8.)

Blutbild: (14.8.1968)

Erythrozyten	3,98	Mill/mm^3
Hb	11,8	g%
Hb_E	29,6	γγ
Retikulozyten	15	‰
Leukozyten	9 600	/mm^3
Eos	4	%
Stab	6	%
Seg	68	%
Lympho	22	%

Patientin N.,E. (Fall 3)

Einweisung: 5.8.1968

Diagnose: Rezidiv nach Mamma-Amputation

Knochenmark-Diagnose: Unauffälliger Knochenmarksbefund. Die Vermehrung der Plasmazellen und der Eosinophilen kann als reaktiv aufgefaßt werden, also sekundäre Tumorzeichen vorhanden.

Therapie bis zur Sternalpunktion: (7.8.1968)

Lanicor^{R} 4 mal 1 Tbl.	ab 5.8.
Valium^{R} 5 mg	ab.6.8.
Atosil^{R} Drg. 2 mal 25 mg	am 7.8. und 8.8.

Blutbild: (6.8.1968)

Erythrozyten	3,66	Mill/mm^3
Hb	10,8	g%
Hb_E	29,5	γγ
Retikulozyten	12	‰
Leukozyten	8 900	/mm^3
Stab	9	%
Seg	69	%
Lympho	20	%
Mono	2	%

Patientin St.,F. (Fall 4)

Einweisung: 30.6.1968

Diagnose: Anämie, chronische Pyelonephritis

Knochenmark-Diagnose: Eisenmangel bei chronischem Infekt

Therapie bis zur Sternalpunktion: (13.8.1968)

Valium^{R} 5 mg; Bepanthen^{R} 3 mal 1 Tabl.;
Atropin^{R} 3 mal 1/4 mg; Binotal^{R};
Paraxin^{R} 2 g/die; Terramycin^{R} (3 mal 250 mg);
Euflat^{R}; Refobacin^{R}; Cytobion^{R};
Ferrlecit^{R} 3 mal 30 Tr.; Kalinor Brausetabl.

Blutbild: (9.8.1968)

Erythrozyten	3,4	Mill/mm^3
Hb	9,4	g%
Hb_E	27,6	γγ
Retikulozyten	18	‰
Leukozyten	8	100/mm^3
Meta	1	%
Stab	6	%
Seg	69	%
Lympho	21	%
Mono	3	%
Fe i.S.	22,5	γ %

Patientin A.,E. (Fall 5)

Einweisung: 6.6.1968

Diagnose: Thrombopenie

Knochenmark-Diagnose: Etwas vermehrte Megakaryopoese; die fehlende Fe-Speicherung im Retikulum läßt auf einen Fe-Mangel schließen.

Therapie bis zur Sternalpunktion: (18.6.1968)

Lanicor^{R} 0,5 mg/die	(Beginn 11.6.)
Ultracorten^{R} 40 mg	(13.6.-18.6.)

Blutbild: (.7.6.1968)

Erythrozyten	3,9 Mill/mm^3
Hb	12,0 g%
Hb_E	30,8 γγ
Retikulozyten	23 ‰
Leukozyten	13 900/mm^3
Plasmazellen	1 %
Eos	3 %
Stab	6 %
Seg	25 %
Lympho	65 %
Thrombozyten	23 000/mm^3

Patient Sch., H. (Fall 6)

Einweisung: 22.8.1968

Diagnose: Cholangitis, kongenitale hämolytische Anämie

Knochenmark-Diagnose: kongenitale hämolytische Anämie

Therapie bis zur Sternalpunktion: (9.9.1968)

Baralgin^{R} 5 ml	(am 22.8.)
Atropin^{R} 0,5 mg 3 mal 1 Tbl.	(22.8.-11.9.)
Paraxin^{R} 2 g	(29.8.-4.9.)
Binotal^{R} 4,0 g	(29.8.-4.9.)
Valium^{R} 10 mg	(am 2.9.)
Combizym^{R} 6 Drg.	(am 8.9.)

Blutbild: (23.8.1968)		(11.9.1968)
Erythrozyten	2,63 Mill/mm^3	2,93 Mill/mm^3
Hb	8,1 g%	9,9 g%
Hb_E	30,8 γγ	33,8 γγ
Retikulozyten	67 ‰	
Leukozyten	4 800/mm^3	
Eos	2 %	
Meta	3 %	
Stab	30 %	
Seg	55 %	
Lympho	7 %	
Mono	3 %	
Thrombozyten	113 000/mm^3	

Patient v.S., H. (Fall 7)

Einweisung: 28.8.1968

Diagnose: Lebercirrhose, hämolytische Anämie durch inkompl. Wärmeagglutinine

Knochenmark-Diagnose: Stark vermehrte und linksverschobene Erythropoese. Der Befund spricht im Zusammenhang mit der Klinik für hämolytische Anämie.

Therapie bis zur Sternalpunktion: (4.9.1968)

Lanicor^{R} 3 Tabl.	(Beginn 28.8.)
Primobolan^{R} Depot 100 mg	(Beginn 28.8.)
Butazolidin^{R} 50 mg	(Beginn 3.9.)
Calcium 2 Tabl.	(Beginn 3.9.)
Mixt. pepsini. 3 mal 1 Eßl.	(Beginn 3.9.)
1 Eßl. Magnesium sulf./die	

Blutbild: (29.8.1968) (2.9.1968)

Erythrozyten	1,72	Mill/mm^3	1,69	Mill/mm^3
Hb	5,4	g%	6,6	g%
Hb_E	31,4	γγ	39,0	γγ
Retikulozyten	/		300	‰
Eos	3	%		
Prom	1	%		
Meta	1	%		
Stab	6	%		
Seg	51	%		
Lympho	34	%		
Mono	4	%		

Thrombozyten 160 000/mm^3

3 Normoblasten; megaloz. Ery.

Patient St., H. (Fall 8)

Einweisung: 15.7.1968

Diagnose: Perniciosa

Knochenmark-Diagnose: Dekompensierte perniciöse Anämie

Therapie bis zur Sternalpunktion: (18.7.1968)

Calcium 10 mg	(Beginn 15.7.)
Lanicor^{R} Tbl. 0,5 mg	(Beginn 15.7.)

Blutbild: (15.7.1968)			(18.7.1968)
Erythrozyten	2,39	Mill/mm^3	/
Hb	10,1	g%	10,8 g%
Hb_E	42,2	γγ	/
Retikulozyten	/		21 ‰
Leukozyten	5	100/mm^3	
Eos	1	%	
Stab	2	%	
Seg	66	%	
Lympho	28	%	
Mono	3	%	

Patient K., A. (Fall 9)

Einweisung: 5.6.1968

Diagnose: Perniciosa, Divertikulitis

Knochenmark-Diagnose: Dekompensierte perniciöse Anämie

Therapie bis zur Sternalpunktion: (12.6.1968)

Lanicor^{R} 3 mal 0,25 mg	(Beginn 7.6.)
Ferrlecit^{R} 80 mg	(Beginn 11.6.)
Distraneurin^{R} 4 mal 1 Tbl.	(Beginn 5.6.)
Tachostyptan^{R} 2 mal 1 Amp.	(am 6.6.)

Blutbild: (6.6.1968)

Erythrozyten	2,37	Mill/mm^3
Hb	7,9	g%
Hb_E	33,3	γγ
Retikulozyten	18	‰
Leukozyten	4 600	/mm^3
Eos	5	%
Stab	1	%
Seg	67	%
Lympho	26	%
Mono	1	%
Thrombozyten	154 000	/mm^3

Patientin R., M. (Fall 10)

Einweisung: 19.7.1968

Diagnose: Dekompensierter Morbus Biermer

Knochenmark-Diagnose: Schwer dekompensierter Morbus Biermer

Therapie bis zur Sternalpunktion: (23.7.1968)

Lanicor^{R} 2 mal 0,25 mg Tbl. am 21.7. und 22.7.
Kalinor Brausetbl. 1 mal 1 Tbl. am 21.7. und 22.7.

Blutbild: (20.7.1968)

Erythrozyten	1,33	Mill/mm^3
Hb	5,2	g%
Hb_E	39,0	γγ
Retikulozyten	18	‰
Leukozyten	1 800	/mm^3
Stab	4	%
Seg	60	%
Lympho	33	%
Mono	3	%
Thrombozyten	26 000	/mm^3

Patient G., P. (Fall 11)

Einweisung: 7.6.1968

Diagnose: Hyperchrome Anämie, Harnwegsinfektion

Knochenmark-Diagnose: Beginnende perniciöse Anämie

Therapie bis zur Sternalpunktion: (19.6.1968)

Farmacyrol^{R} forte 1 Tbl. (Beginn 11.6.)
Lanicor^{R} 1 Tbl. 0,5 mg (Beginn 7.6.)

Blutbild: (8.6.1968) (25.6.1968)

Erythrozyten	3,09	Mill/mm^3	3,67	Mill/mm^3
Hb	10,1	g%	10,4	g%
Hb_E	32,7	γγ	28,3	γγ
Retikulozyten	/		23	‰
Leukozyten	6 400	/mm^3		
Seg	61	%		
Lympho	34	%		
Mono	5	%		

Einweisung: 20.6.1968

Diagnose: Hyperchrome Anämie bei symptomatischem B_{12} Mangel, durch Potatorium Morbus Wernicke.

Knochenmark-Diagnose: angeregte Erythropoese mit Megaloblastoiden

Therapie bis zur Sternalpunktion: (15.7.1968)

3 Tbl. Distraneurin^{R}/die	(Beginn 20.6.)
Lanicor^{R} Tbl. 0,375 mg	(Beginn 21.6.)
Kalinor Brausetbl. 3 mal 1 Tbl.	(24.6.-1.7.)
Depot Novadral^{R} 2 mal 1 Amp.	(Beginn 13.7.)

Blutbild: (8.7.1968) (16.7.1968)

Erythrozyten	3,58 Mill/mm^3	3,73 Mill/mm^3
Hb	13,5 g%	12,8 g%
Hb_E	37,7 "	34,3 "
Retikulozyten	/	13 ‰
Leukozyten	6 400/mm^3	5 800/mm^3
Eos	7 %	
Seg	60 %	
Lympho	25 %	
AMZ	8 %	

In der folgenden graphischen Darstellung sind jeweils die prozentualen Anteile der Retikulozytenstufen 0, I, II, III und IV, bezogen auf die rote Reihe (Erythroblasten + Retikulozyten = 500) zum Zeitpunkt 0 Std., 24 Std., 48 Std. und 72 Std. wiedergegeben.

Normale Erythropoese

Abb. 1 (Fall 1)

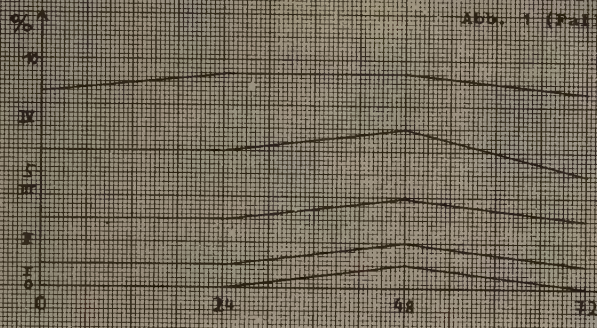


Abb. 2 (Fall 2)

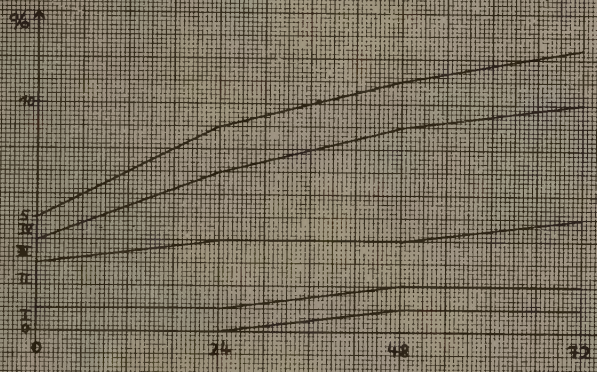
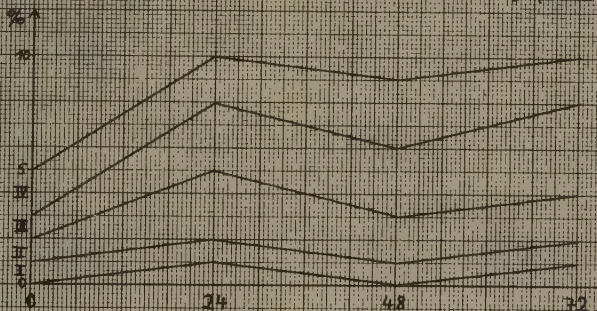


Abb. 3 (Fall 3)



Eisenausgleichskurve
Abb. 4 (Fall 4)

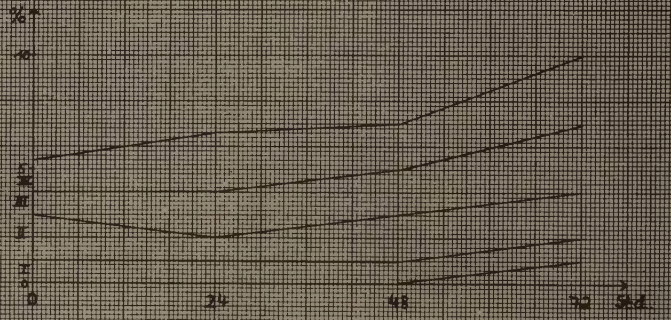
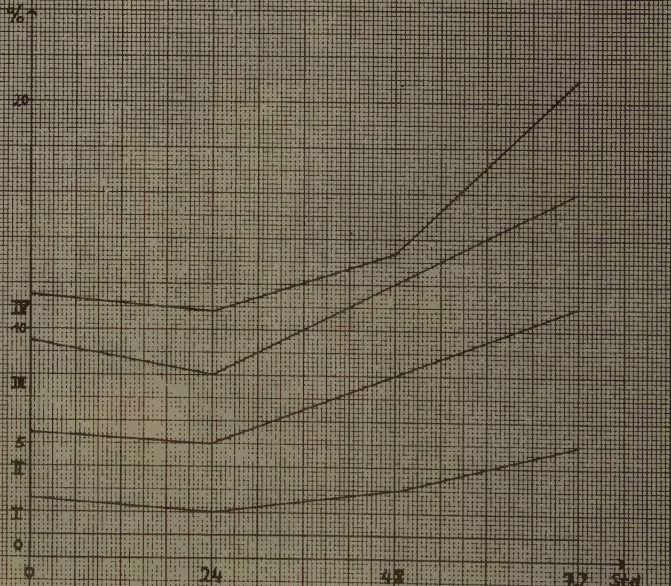
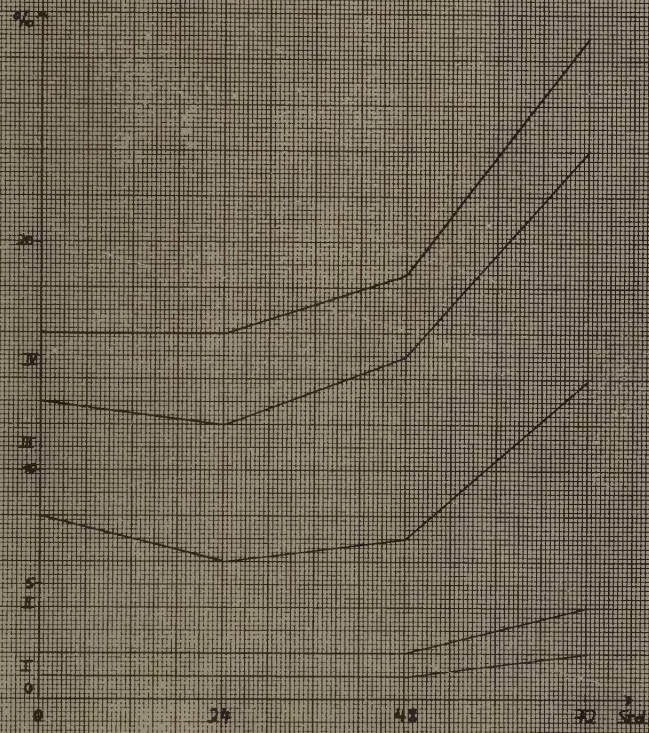


Abb. 5 (Fall 5)

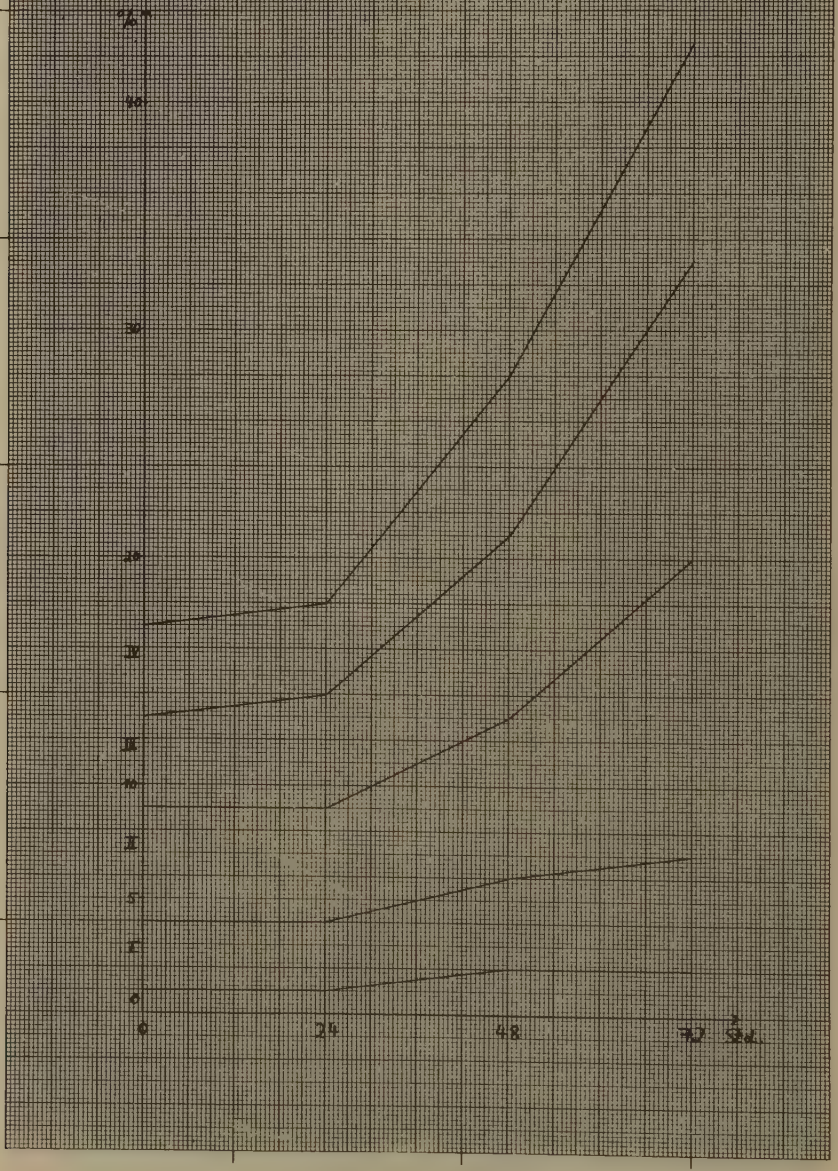


Kongenitale hämolytische Anämie

Abb. 6 (Fall 6)



Erworbene hämolytische Anämie
(Abb. 7 (Fall 7)



Perniciose Anaemie

Abb. 8 (Fall 8)

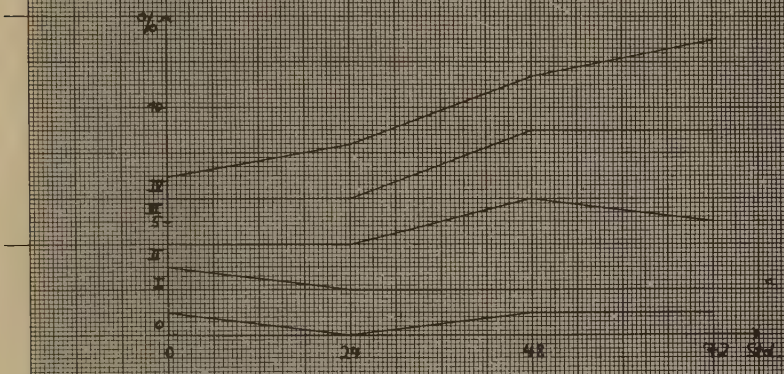
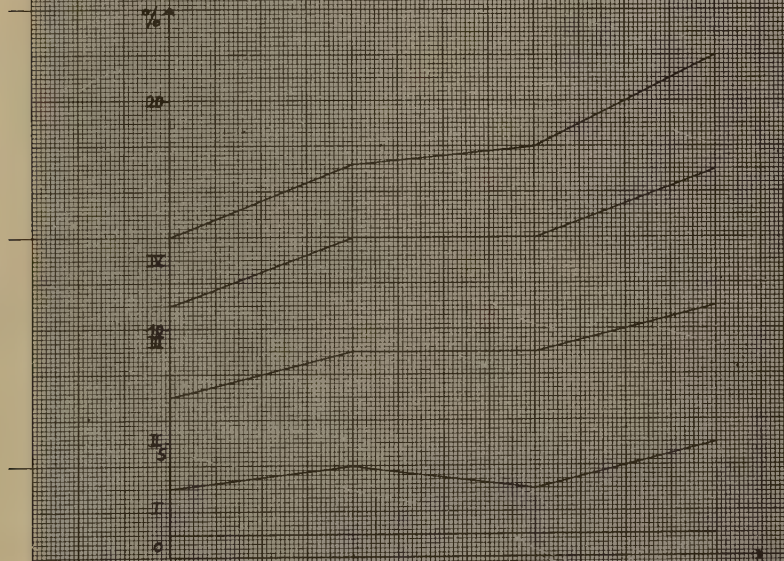
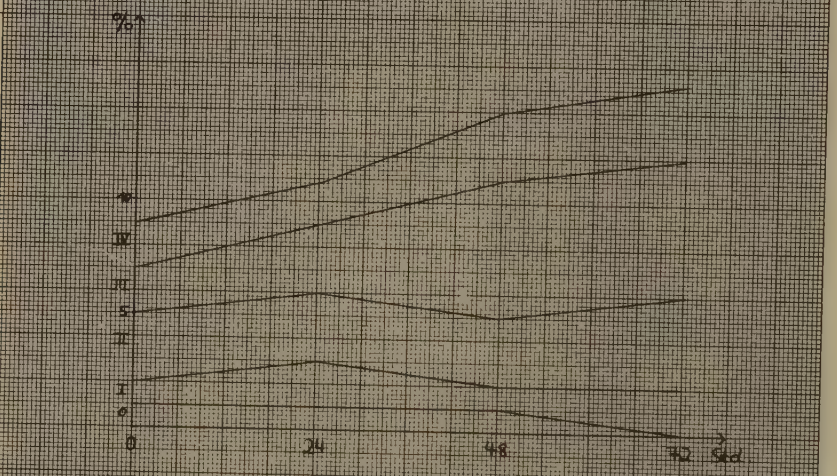


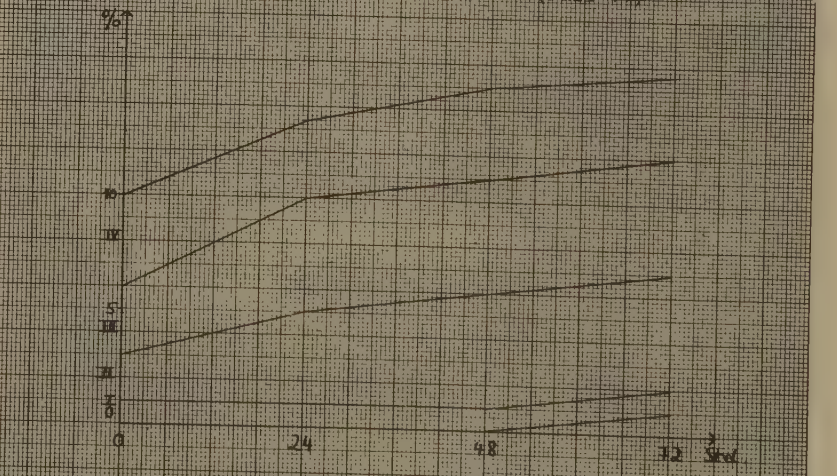
Abb. 9 (Fall 9)



Perniciöse Anämie
Abb. 10 (Fall 10)

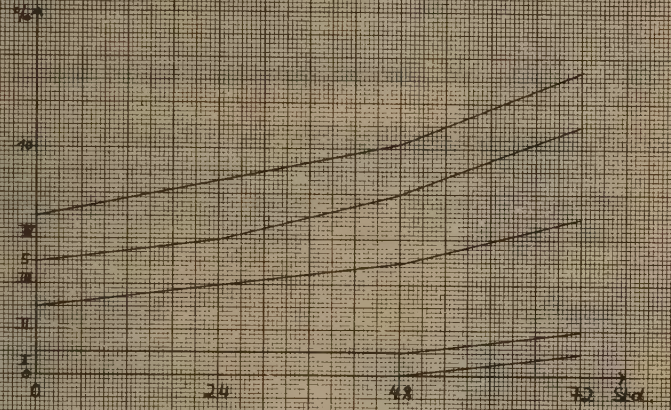


Beginnende perniciöse Anämie
Abb. 11 (Fall 11)



Perniciosiforme Anämie.

Abb. 12 (Fall 12)



E R G E B N I S S E

Die Zählergebnisse wurden zunächst für jeden Patienten getrennt ausgewertet. (Es wurden folgende Abkürzungen verwendet: Ebl. = Erythroblasten; Reti. = Retikulozyten)

Fall 1 (Abb. 1): Leicht angeregte Erythropoese

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 87‰, nach 24 Std. 94‰, nach 48 Std. 92‰ und nach 72 Std. 89‰.

B. Tabelle 1a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	1	4	9	14	12	40
24	2	3	10	14	14	43
48	3	3	8	12	16	42
72	2	3	10	10	16	41

Tabelle 1b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	%
0	3	10	22	35	30	
24	5	7	23	32	33	
48	7	7	19	29	38	
72	5	7	25	24	39	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Stunden um 2,5% zu (Tabelle 1a); der stärkste Zuwachs findet zwischen 0/24 Stunden statt, und zwar um 7,5%, danach nimmt der Wert wieder ab.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen I und III nehmen zwischen 0/72 Std. ab.

b) Der Zuwachs der Gruppe IV ist zwischen 0/72 Std. am größten.

c) Die Gruppe III besitzt mit 35% den Höchstanteil im

Sofortausstrich (Tabelle 1b); dieser verschiebt sich nach 24 Stunden zur Gruppe IV hin, die von 30% auf 39% stetig zunimmt. Diese beiden Gruppen sind anteilmäßig am stärksten vertreten.

Fall 2 (Abb. 2): Leicht angeregte Erythropoese

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 3. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 53‰, nach 24 Std. 87‰, nach 48 Std. 111‰ und nach 72 Std. 124‰.

B. Tabelle 2a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	0	5	10	6	4	25
24	1	3	12	12	12	40
48	3	3	10	21	13	50
72	3	4	12	22	14	55

Tabelle 2b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	0	20	40	24	16	%
24	3	8	29	30	30	
48	6	6	20	42	26	
72	6	7	22	40	25	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. stetig um 120% zu (Tabelle 2a), wobei der stärkste Zuwachs um 60% zwischen 0/24 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufe I nimmt als einzige Gruppe zwischen 0/72 Std. ab (Tabelle 2a).

b) Die Zunahme der Gruppen III und IV von 0/72 Std. ist größer als die der übrigen Gruppen.

c) Die Stufen III und II sind im Mittel am stärksten vertreten. Im Originalausstrich ist der prozentuale Anteil der Gruppe II am größten (Tabelle 2b); dieses Maximum verschiebt sich nach 48 Std. zur Stufe III hin.

Fall 3 (Abb. 3): Leicht angeregte Erythropoese

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 51%o, nach 24 Std. 96%o, nach 48 Std. 89%o und nach 72 Std. 101%o.

B. Tabelle 3 a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	0	1	7	6	10	24
24	3	4	13	13	11	44
48	2	4	8	15	12	41
72	3	3	7	16	17	46

Tabelle 3 b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV
0	0	5	29	25	41
24	7	9	30	29	25
48	5	10	19	37	29
72	7	7	15	34	37

%

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. um 91,6% zu (Tabelle 3a); der größte Zuwachs liegt mit 83,3% zwischen 0/24 Std., während eine geringfügige Abnahme um 6,8% zwischen 24/48 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen III und IV sind im Mittel am stärksten vertreten.

b) Während der Zuwachs der Gruppen III und IV gut ersichtlich ist, ändern sich die Werte der Stufen 0, I und II insgesamt gesehen nur geringfügig.

Fall 4 (Abb. 4): Eisenmangelanämie bei chronischem Infekt

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 55‰, nach 24 Std. 66‰, nach 48 Std. 71‰ und nach 72 Std. 99‰.

B. Tabelle 4a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Ret. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	1	3	8	7	7	26
24	2	3	6	9	11	31
48	1	3	8	11	10	33
72	3	3	10	15	14	45

Tabelle 4b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	4	11	31	27	27	‰
24	6	10	20	29	35	
48	3	9	24	34	30	
72	7	7	22	33	31	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. stetig um 73% zu (Tabelle 4a); dabei erfolgt der größte Zuwachs um 36,3% zwischen 48/72 Std.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen III und IV sind am stärksten vertreten.

b) Der Wert der Gruppe I bleibt zwischen 0/72 Std. unverändert, während alle anderen Gruppen zunehmen (Tabelle 4a).

c) Der Zuwachs der Gruppen III und IV ist größer als bei den übrigen Stufen.

Fall 5 (Abb. 5): Eisenmangelanämie bei Thrombopenie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 1. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 114‰, nach 24 Std. 109‰, nach 48 Std. 134‰ und nach 72 Std. 211‰.

B. Tabelle 5a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	3	8	15	16	9	51
24	5	6	15	15	8	49
48	4	7	20	17	11	59
72	3	16	26	20	22	87

Tabelle 5b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Ret.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	6	16	29	31	18	%
24	10	12	31	31	16	
48	7	12	35	28	18	
72	3	19	30	23	25	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt um 70,6% von 0/72 Std. zu (Tabelle 5a); wobei eine geringfügige Abnahme um 3,9% zwischen 0/24 Std. erfolgt; danach wächst der Wert an. Die größte Zunahme um 47,4% findet zwischen 48/72 Std. statt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen II und III sind am stärksten vertreten.

b) Der größte Zuwachs von 0 auf 72 Std. zeigt sich bei den Stufen II und IV, aber auch die Stufe I nimmt um 100% ungewöhnlich stark zu (Tabelle 5a).

c) Die schon anfangs stark vertretenen Retikulozyten der Gruppe 0 bleiben über die Beobachtungszeit anteilmäßig konstant.

Fall 6 (Abb. 6): Kongenitale hämolytische Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 1. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 163‰, nach 24 Std. 160‰, nach 48 Std. 185‰ und nach 72 Std. 289‰.

B. Tabelle 6a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	3	6	24	23	14	70
24	3	5	19	24	18	69
48	5	6	20	35	12	78
72	6	8	38	40	20	112

Tabelle 6b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	4	9	34	33	20	%
24	4	7	28	35	26	
48	6	8	26	45	15	
72	5	7	34	36	18	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0 auf 72 Std. um 60% zu (Tabelle 6a). Während der Wert zwischen 0/24 Std. eine geringfügige Abnahme um 1,4% aufweist, wächst er danach stetig an, wobei der stärkste Zuwachs um 43,5% zwischen 48/72 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Werte der Gruppen II und III steigen sehr viel stärker an, als die der anderen Gruppen (Tabelle 6a).

b) Die Stufen III und II sind am stärksten vertreten. Im Originalausstrich besitzt die Gruppe II den prozentualen Höchstanteil (Tabelle 6b), dieses Maximum verschiebt sich nach 24 Std. zur Stufe III hin.

Fall 7 (Abb. 7): Erworbene hämolytische Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 1. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 171‰, nach 24 Std. 179‰, nach 48 Std. 282‰ und nach 72 Std. 429‰.

B. Tabelle 7a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	5	12	22	17	17	73
24	6	12	20	20	18	76
48	8	16	28	30	28	110
72	8	18	46	46	32	150

Tabelle 7b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	7	17	30	23	23	%
24	8	16	26	26	24	
48	7	15	25	27	26	
72	5	12	31	31	21	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. stetig um 105,4% zu (Tabelle 7a), dabei liegt der stärkste Zuwachs mit 44,7% zwischen 24/48 Std.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die größten Sprünge von 0 auf 72 Std. treten bei den Stufen II und III auf, zudem fällt der ungewöhnlich große Zuwachs der Gruppe I um 50% auf (Tabelle 7a).

b) Die Stufe II ist im Mittel am stärksten vertreten, zudem besitzt sie im Originalausstrich den prozentualen Höchstanteil (Tabelle 7b).

Fall 8 (Abb. 8): Dekompensierte perniciöse Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 71%o, nach 24 Std. 85%o, nach 48 Std. 114%o und nach 72 Std. 128%o.

B. Tabelle 8a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	3	9	7	8	6	33
24	1	8	10	10	10	39
48	3	6	19	12	11	51
72	3	5	15	18	16	57

Tabelle 8b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV
0	9	27	22	24	18
24	3	21	26	25	25
48	5	12	37	24	22
72	5	9	26	32	28

%

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. um 72,7% zu (Tabelle 8a), wobei der größte Zuwachs mit 30,7% zwischen 24/48 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen II und III sind im Mittel am stärksten vertreten.

b) Während der Wert der Stufe 0 insgesamt gesehen gleich bleibt, zeigt der von Stufe I eine Abnahme (Tabelle 8a).

c) Der Zuwachs der Gruppen III und IV ist zwischen 0/72 Std. am größten.

Fall 9 (Abb. 9): Dekompensierte perniciöse Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 144‰, nach 24 Std. 174‰, nach 48 Std. 179‰ und nach 72 Std. 220‰.

B. Tabelle 9a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	3	9	17	19	15	63
24	6	11	22	20	15	74
48	4	10	24	22	16	76
72	6	18	26	24	16	90

Tabelle 9b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	5	14	27	30	24	%
24	8	15	30	27	20	
48	5	13	32	29	21	
72	7	20	29	27	17	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. um 42,8% zu (Tabelle 9a), wobei der größte prozentuale Zuwachs um 18,4% zwischen 48/72 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen II und III sind am stärksten vertreten.

b) Die größten Sprünge von 0/72 Std. treten bei den Gruppen I und II auf, dabei ist vor allem der Zuwachs von Stufe I um 100% für diese Gruppe ungewöhnlich groß (Tabelle 9a).

Fall 10 (Abb. 10): Dekompensierte perniciöse Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 2. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 87‰, nach 24 Std. 106‰, nach 48 Std. 139‰ und nach 72 Std. 152‰.

B. Tabelle 10a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	4	6	14	10	6	40
24	4	10	14	14	6	48
48	4	6	14	26	11	61
72	1	8	16	24	17	66

Tabelle 10b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Ret.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	10	15	35	25	15	%
24	8	21	29	29	13	
48	7	10	23	42	18	
72	2	12	24	36	26	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. um 65% zu (Tabelle 10a), der stärkste Zuwachs um 27% erfolgt zwischen 24/48 Std.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen II und III sind im Mittel am stärksten vertreten.

b) Die Stufe 0 nimmt zwischen 0/72 Std. als einzige Stufe ab (Tabelle 10a).

c) Die Stufen III und IV zeigen einen großen Zuwachs zwischen 0/72 Std., die Werte der anderen Gruppen ändern sich nur geringfügig.

Fall 11 (Abb. 11): Beginnende perniciöse Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 1. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 99‰, nach 24 Std. 134‰, nach 48 Std. 149‰ und nach 72 Std. 157‰.

B. Tabelle 11a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	0	I	II	III	IV	S
0	1	3	9	15	17	45
24	2	6	18	20	13	59
48	2	6	21	20	16	65
72	3	6	20	21	18	68

Tabelle 11b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Reti.-Zahl

h	0	I	II	III	IV	
0	2	7	20	33	38	%
24	3	10	31	34	22	
48	3	9	32	31	25	
72	4	9	30	31	26	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. stetig um 51% zu (Tabelle 11a), wobei der stärkste prozentuale Zuwachs mit 31% zwischen 0/24 Std. liegt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufen II und III sind am stärksten vertreten.

b) Der größte Sprung zwischen 0/72 Std. tritt bei der Gruppe II auf, etwas geringer auch bei der Gruppe III. Die Werte der anderen Gruppen wachsen nur geringfügig an (Tabelle 11a).

Fall 12 (Abb.12): Perniciosiforme Anämie

A. Im Originalausstrich ist der G/E-Index 1. Der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe beträgt zu diesem Zeitpunkt 71‰, nach 24 Std. 85‰, nach 48 Std. 124‰ und nach 72 Std. 134‰.

B. Tabelle 12a

Absolutwerte bez. auf die rote Reihe (Ebl.+ Reti. = 500)

h	O	I	II	III	IV	S
0	2	2	10	9	10	33
24	2	3	13	9	12	39
48	2	5	19	15	14	55
72	4	3	20	17	15	59

Tabelle 12b

Proz. Gruppenanteil an der Gesamt-Ret.-Zahl

h	O	I	II	III	IV	
0	6	6	31	27	30	%
24	5	8	33	23	31	
48	4	9	35	27	25	
72	7	5	34	29	25	

C. Zunahme der Gesamtretikulozytenzahl während der Kulturdauer:

Die Gesamtretikulozytenzahl nimmt von 0/72 Std. stetig um 79% zu (Tabelle 12a), wobei der stärkste Zuwachs mit 41% zwischen 24/48 Std. erfolgt.

D. Zunahme innerhalb der Einzelgruppen:

a) Die Stufe II ist im Mittel am stärksten vertreten, sie besitzt über die gesamte Zeit den Höchstanteil, der von 31% auf 34% anwächst (Tabelle 12b).

b) Die größten Sprünge zwischen 0/72 Std. treten bei den Gruppen II und III auf (Tabelle 12a).

2. TABELLE 13

In der folgenden Tabelle ist der Anteil der Retikulozytengruppen sowie der Anteil der Gesamtretikulozytenzahl an der roten Reihe (Erythroblasten + Retikulozyten = 500) im Originalausstrich in Promille angegeben. Zum Vergleich sind die Retikulozytenwerte der peripheren Blutausstriche ebenfalls aufgeführt.

	Anteil der Retikulozytengruppe					Anteil der Gesamtretikulozytenzahl	Werte der Blutretikulozyten
	0	I	II	III	IV		
Fall 1	2 ‰	9 ‰	20 ‰	30 ‰	26 ‰	87 ‰	21 ‰
Fall 2	0 ‰	11 ‰	21 ‰	13 ‰	8 ‰	53 ‰	15 ‰
Fall 3	0 ‰	2 ‰	15 ‰	13 ‰	21 ‰	51 ‰	12 ‰
Fall 4	2 ‰	6 ‰	17 ‰	15 ‰	15 ‰	55 ‰	18 ‰
Fall 5	7 ‰	18 ‰	33 ‰	36 ‰	20 ‰	114 ‰	23 ‰
Mittelwert	2,2‰	9,2‰	21,2‰	21,4‰	18 ‰	72 ‰	17,8‰
Fall 6	7 ‰	14 ‰	56 ‰	53 ‰	33 ‰	163 ‰	67 ‰
Fall 7	12 ‰	28 ‰	51 ‰	40 ‰	40 ‰	171 ‰	300 ‰
Mittelwert	9,5‰	21 ‰	53,5‰	46,5‰	36,5‰	167 ‰	183,5‰
Fall 8	7 ‰	19 ‰	15 ‰	17 ‰	13 ‰	71 ‰	21 ‰
Fall 9	7 ‰	21 ‰	39 ‰	43 ‰	34 ‰	144 ‰	18 ‰
Fall 10	9 ‰	13 ‰	30 ‰	22 ‰	13 ‰	87 ‰	18 ‰
Fall 11	2 ‰	7 ‰	20 ‰	33 ‰	37 ‰	99 ‰	23 ‰
Fall 12	4 ‰	4 ‰	22 ‰	19 ‰	22 ‰	71 ‰	13 ‰
Mittelwert	5,8‰	12,8‰	25,2‰	26,8‰	23,8‰	94,4‰	18,6‰

3. T A B E L L E 14

Das Verhältnis von Retikulozyten zu Erythroblasten zeigt in allen Fällen eine Zunahme der Zahlenwerte, häufig bis über die Hälfte innerhalb der vier Kulturzeiten, d.h. ein relatives Ansteigen der Retikulozytenwerte.

Verhältnis: Retikulozyten zu Erythroblasten in ‰

	Original-ausstrich	24 Std.-Kultur	48 Std.-Kultur	72 Std.-Kultur
Fall 1	87 ‰	94 ‰	92 ‰	89 ‰
Fall 2	53 ‰	87 ‰	111 ‰	124 ‰
Fall 3	51 ‰	96 ‰	89 ‰	101 ‰
Fall 4	55 ‰	66 ‰	71 ‰	99 ‰
Fall 5	114 ‰	109 ‰	134 ‰	211 ‰
Mittelwert:	72 ‰	90,4‰	99,4‰	124,8‰
Fall 6	163 ‰	160 ‰	185 ‰	289 ‰
Fall 7	171 ‰	179 ‰	282 ‰	429 ‰
Mittelwert:	167 ‰	168,5‰	233,5‰	359 ‰
Fall 8	71 ‰	85 ‰	114 ‰	128 ‰
Fall 9	144 ‰	174 ‰	179 ‰	220 ‰
Fall 10	87 ‰	106 ‰	139 ‰	152 ‰
Fall 11	99 ‰	134 ‰	149 ‰	157 ‰
Fall 12	71 ‰	85 ‰	124 ‰	134 ‰
Mittelwert:	94,4‰	116,8‰	141 ‰	158,2‰

4. TABELLE 15

Der G/E-Index, das Zahlenverhältnis von Granuloblasten und Granulozyten zu Erythroblasten, zeigt in vielen Fällen über alle Kulturzeiten Werte von ziemlich gleichbleibender Größe. In drei Fällen (Fall 1, 3 und 4) ist eine geringe Erhöhung des G/E-Index, in einem Fall (Fall 2) eine geringe Erniedrigung zu verzeichnen.

G/E-Index

	Original-ausstrich	24 Std.-Kultur	48 Std.-Kultur	72 Std.-Kultur
Fall 1	2	2	3	3
Fall 2	3	3	1	2
Fall 3	2	1	2	3
Fall 4	2	2	1	3
Fall 5	1	1	1	1
Fall 6	1	1	1	1
Fall 7	1	1	1	1
Fall 8	2	1	2	2
Fall 9	2	2	2	2
Fall 10	2	2	2	2
Fall 11	1	1	1	1
Fall 12	1	1	2	1

5. TABELLE 16

Gesamtübersicht der Zählergebnisse:

	Proz. Zuwachs der Gesamtretikulozyten zwischen 0/72 Std. bez. auf die Absolutwerte der Tabellen 1a - 12a	Retikulozytengruppen mit Höchstanteil	Retikulozytengruppen mit der stärksten Zunahme zwischen 0/72 Std.
Fall 1	2,5% (nicht stetig)	IV, III	IV
Fall 2	120 % (stetig)	III, II	III, IV
Fall 3	91,6% (nicht stetig)	III, IV	III, IV
Fall 4	73 % (stetig)	III, IV	III, IV
Fall 5	70,6% (nicht stetig)	II, III	II, IV
Fall 6	60 % (nicht stetig)	III, II	II, III
Fall 7	105,4% (stetig)	II	II, III
Fall 8	72,7% (stetig)	II, III	III, IV
Fall 9	42,8% (stetig)	II, III	I, II
Fall 10	65 % (stetig)	III, II	III, IV
Fall 11	51 % (stetig)	III, II	II, III
Fall 12	79 % (stetig)	II	II, III

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei den untersuchten Anämien ergeben sich im einzelnen stark abweichende Zählergebnisse, so daß von vornherein eine arithmetische Mittelung aller Ergebnisse wenig sinnvoll ist und zu einer Verfälschung führen muß. Wir haben aus diesem Grunde nur analoge Krankheitsfälle zusammengefaßt und drei Gruppen gebildet.

In der Gruppe der hypochromen Anämien (Fall 1 - 5) finden wir bei den meisten Fällen (1 - 4) im Originalausstrich fast keine Retikulozyten der Gruppe 0, später jedoch eine deutliche Zunahme der Retikulozytenzahl innerhalb dieser Stufe, die bezogen auf die Retikulozyten im Originalausstrich über 50% liegt (Tabellen 1a - 4a). Die unreifen Stufen I und II bleiben im wesentlichen gleich belegt, wobei Abweichungen vermutlich auf statistische Fehler zurückgehen, während sich die reifen Stufen (III und IV) mit Ausnahme eines Falles (Fall 1) deutlich vermehren. Bei einem Vergleich der ersten vier Fälle können wir relativ übereinstimmende Absolutwerte lediglich für die ersten drei Stufen (0, I, II) feststellen, während innerhalb der reifen Stufen III und IV deutliche Unterschiede von Fall zu Fall auftreten. Der Fall 5 mit dem höheren Anteil von Retikulozyten im Originalpräparat (Tabelle 13) macht insofern eine Ausnahme, als die Stufe 0 gleich zu Anfang stark vertreten ist und hoch bleibt (Tabelle 5a), während sich die unreifen Stufen I und II sehr stark vermehren und sich unter der 72-stündigen Kulturdauer sogar verdoppeln.

Bei stimulierter Erythropoese, Fe-Mangel und chronischen Blutungsanämien sehen wir also in der Koagulumkultur eine Vermehrung der Retikulozytenzahl mit Ausnahme des Falles 1 auf 70,6% - 120% des Ausgangswertes (Tabelle 16). Der größte Anstieg der Relativwerte liegt am 1. oder 3. Kulturtag zugunsten der reiferen Retikulozyten (III und IV), die sowieso am stärksten vertreten sind.

Die beiden Fälle mit hämolytischer Anämie (Fall 6 und 7) heben sich deutlich von der Gruppe der hypochromen Anämien ab. Dies trifft sowohl für die Gesamtretikulozytenzahlen zu, die von Anfang an im Knochenmark wie im peripheren Blut sehr hoch liegen, als auch für die Veränderung innerhalb der einzelnen Retikulozytengruppen. Die Gesamtzunahme der Retikulozytenzahl in vitro beläuft sich auf 60% bez. 105,4% für den 72-Stundenraum und betrifft in etwa alle Stufen gleichmäßig. (Tabelle 6a und 7a). Ein Vergleich der beiden Fälle hämolytischer Anämie (Abb. 6 und 7) macht deutlich, daß der prozentuale Anteil der Stufe I bei dem Fall mit der stärkeren Retikulozytenzahl im Blut (Fall 7) unverhältnismäßig groß ist. Interessanterweise verschiebt sich innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 72 Stunden die verhältnismäßig starke Belegung der Stufe I nicht zu reiferen Stufen, sondern bleibt in dieser Stufe erhalten, was für eine weitere Ausreifung der Retikulozyten in vitro spricht. Bei der hämolytischen Anämie mit dem höheren Ausgangswert an Blut- und Markretikulozyten (Fall 7) fällt ebenso wie beim Fall 5 mit ebenfalls erhöhten Werten der Gehalt an Gruppe O im Originalausstrich auf. Die Steigerung der Retikulozytenzahl liegt bei Fall 6 und 7 außer in den Stufen II und III auch bei den Gruppen O und I, wobei die Vermehrung jedoch noch nicht am ersten Tag eintritt. Erst am 2. und 3. Tag in vitro kommt es zu dem starken Zuwachs von Retikulozyten, der pro Tag in etwa 4,1% - 44,7% beträgt (Tabelle 6a und 7a).

In der Gruppe der perniciösen Anämien (Fall 8 - 12) nimmt die Gesamtretikulozytenzahl zwischen 42,8% und 79% zu (Tabelle 16). Die Stufen II und III sind am stärksten vertreten und wachsen während der 72-stündigen Kulturdauer auch am stärksten an. Der Anteil der Gruppen O und I bleibt im ganzen konstant; in zwei Fällen (Fall 9 und 11) läßt sich eine Verdoppelung der Retikulozyten der Stufe I feststellen.

D I S K U S S I O N

Die Bestimmung des Retikulozytengehaltes im peripheren Blut bietet die Möglichkeit einer Einsichtnahme in den Funktionszustand der Erythropoese. Für den klinischen Gebrauch stellt sie zur Beurteilung der erythropoetischen Produktionsrate die wohl geeignetste Methode dar.
Die Darstellung der Retikulozyten in Knochenmarkausstrichen mit den für ihren Nachweis im peripheren Blut bei ROMEIS (79) angegebenen Supravitalfärbungen ist möglich, die Färbeergebnisse sind allerdings durch Überfärbungen und Zellzerstörungen, vor allem von Granulozyten, für differenzierende Zählungen unbrauchbar. Wenn der Retikulozytengehalt in Relation zur zytopoetischen Aktivität des Knochenmarks gebracht werden soll, muß die Färbung zwei Bedingungen erfüllen:

a) Die Retikulozyten müssen angefärbt werden und nach den von HEILMEYER (29) angegebenen Kriterien in Gruppen zu ordnen sein;
b) alle Knochenmarkzellarten müssen voneinander abgrenzbar dargestellt sein.

Weil die herkömmlichen Färbemethoden die zweite Bedingung nicht erfüllen, haben wir eine neue Methode entwickelt:
Bei schrittweiser Erniedrigung der Brillantkresylblaukonzentration fanden wir mit Lösungen, deren Brillantkresylblaugehalt für die Darstellung von Retikulozyten bereits nicht mehr ausreichte, immer noch Trümmer zerstörter Zellen. Auch durch Applikation des Farbstoffes in blutisotoner Lösung, wobei wir den chemisch inerten Kochzucker zur Auffüllung der Osmolarität benutzten, konnten wir die Zellzerstörung nicht verhindern. Mithin konnten wir auswertbare Färbeergebnisse nur erwarten, wenn es gelang, die Zellzerstörung durch Fixierung zu vermeiden, wobei zu prüfen war, ob die Sgf mit Brillantkresylblaulösungen auch am fixierten Material anfärbbar blieb.

Die Applikation des Farbstoffes in einer 4%-igen Formalinlösung unter Wahrung eines physiologischen pH-Wertes durch Bikarbonatzusatz bewirkte eine gute Darstellung aller Zellen, die Sgf wurde aber nur sehr schwach angefärbt und unterschied sich dann zu wenig vom Stroma. Durch vorherige Anwendung eines Fixierungsmittels versuchten wir diesen Mangel auszugleichen. Wir gingen dabei von der Vorstellung aus, daß die schlechtere Anfärbbarkeit der Sgf durch die mit der Fixierung verbundene chemische Veränderung bedingt sei, der die kombinierte Anwendung von zwei fixierenden Agentien mit hypothetisch unterschiedlichem Angriffspunkt entgegenwirken könnte.

Die kurze Vorbehandlung mit 70%-igem Methanol erwies sich als in der gewünschten Weise wirksam, d.h. es gelang mit der Kombination der Vorfixierung durch Methanol und der Färbung und Fixierung durch eine isoosmotische und isohydrische Brillantkresylblaulösung in 4%-igem Formalin die Zellen differenzierbar darzustellen und die Sgf gut sichtbar anzufärben. Die Einwirkung des Methanols wurde auf 2 Minuten beschränkt, weil bei längerer Einwirkung die Lösung schwach rötlich wurde (durch Hämoglobin) und im Präparat Erythrozytenmembranen gefunden wurden.

Die von uns gewählte Methode stellt Strukturen an fixiertem Material dar, die bisher nur mit einer Supravitalfärbung nachgewiesen wurden. Die Sgf und die Kernsubstanz färben sich tiefblau, das Protoplasma erscheint hellblau, während die Erythrozyten einen grünlich-blauen Ton annehmen. Die Darstellung der Sgf ist dabei nach Lokalisation, Häufigkeit, Formdifferenzierung und Farbstoffaffinität gleichartig wie bei Supravitalfärbungen. Dennoch ist nicht auszuschließen, daß die Zählergebnisse durch die angewandte Färbemethode beeinflußt werden; allerdings bleibt ein derartiger Fehler für alle Fälle gleich und verändert die Relationen nicht. Die angewandte Methodik erfaßt den zahlenmäßigen Anteil der fünf

Retikulozytengruppen nach HEILMEYER (29) an der roten Reihe, sowohl im Original-Knochenmarkausstrich als auch in Kulturpräparaten, die in 24-stündigen Zeitintervallen hergestellt werden. Dabei beträgt der Gesamtuntersuchungszeitraum 72 Stunden.

Unsere Zählergebnisse und die Abbildungen 1 - 12 lassen erkennen, daß die Gesamtretikulozytenzahl bei allen 12 Fällen (im Falle 1 nur geringfügig) während der Kulturdauer von 72 Stunden zunimmt, wobei diese Zunahme nicht immer stetig erfolgt. Der prozentuale Zuwachs während der 3 Tage schwankt stark und liegt zwischen 2,5% und 120%. Unter den gegebenen Züchtungsbedingungen findet also zweifellos eine Entwicklung vom Erythroblasten zum Erythrozyten über das Retikulozytenstadium statt. Unter Zugrundelegung der von ASTALDI (80) für die Retikulozyten angenommenenen Reifungsdauer von 24 - 36 Stunden schließen wir, daß auch während längerer Kultivierung ein Nachschub von Erythroblasten zu Retikulozyten erfolgt, der bis zu 72 Stunden nicht abklingt.

ASTALDI und TOLENTINO (80) differenzierten bei Färbungen mit Brillantkresylblau an inkubierten normalen Sternalpunktaten in vitro eine Gruppe O (orthochromatische Erythroblasten), Gruppe A (Typ I und II der Retikulozyten) und Gruppe B (Typ III und IV der Retikulozyten). Die von ihnen über 96 Stunden durchgeführten Zählungen ergaben für die orthochromatischen Erythroblasten ein Maximum bei 18 Stunden. Mit der Abnahme der orthochromatischen Erythroblasten nahmen die unreifen Retikulozyten (Gruppe A) zu und erreichten bei etwa 24 Stunden ein Maximum, welches anteilmäßig ungefähr mit dem Maximum der orthochromatischen Erythroblasten übereinstimmte. Nach etwa 48 Stunden fanden sie für die reifen Retikulozyten (Gruppe B) ein Maximum, das zahlenmäßig erheblich größer war,als das der Gruppe A. Bemerkenswert war der geringe Anteil der gezählten Zellen aller drei Gruppen nach 72-stündiger Kulturdauer. Bei unseren Zählungen ergaben sich für die reifen For-

men der Retikulozyten ebenfalls Maxima, die über denen der unreifen Formen lagen. Im Gegensatz zu den Zählungen von ASTALDI nahm die Zellzahl jedoch in allen Fällen bis 72 Stunden zu, so daß der zahlenmäßige Abfall der Zellen, der von ASTALDI nach 48 Stunden gefunden wurde, nicht bestätigt werden konnte. ASTALDI und TOLENTINO (80) schlossen aus ihren Ergebnissen, daß die Reifung der Erythroblasten zu Erythrozyten auch unter Umgehung sämtlicher Retikulozytenstufen erfolgen kann, was die Ansicht von ROHR (67), FORSSELL (65) und UNGRICHT (71) unterstützen würde. Wir konnten dies nicht bestätigen, allerdings aus unserer Versuchsanordnung (relative Werte, Unkenntnis der Retikulozytenlebensdauer) auch keinen Beweis für das obligatorische Durchlaufen aller Retikulozytenreifestufen erbringen.

Die von UNGRICHT (71) durchgeführten Zählungen von Mark- und Blutretikulozyten, bei denen er eine Gruppe 1 (Stufe 0, I, II), Gruppe 2 (Stufe III) und Gruppe 3 (Stufe IV) unterschied, ergaben für die Markretikulozyten eine von den unreifen Formen zu den reifen Formen abfallende Kurve, für die Blutretikulozyten umgekehrt eine von den unreifen Formen zu den reifen Formen ansteigende Kurve. Bei einem Vergleich unserer Ergebnisse mit den Zählungen von UNGRICHT (71) läßt sich feststellen, daß bei allen drei Gruppen von Anämien reife und unreife Retikulozytenformen zu etwa gleichen Anteilen vorhanden sind, und daß lediglich bei den hämolytischen Anämien die unreifen Formen etwas überwiegen. Der von UNGRICHT gefundene Kurvenverlauf für die Markretikulozyten konnte von uns daher nicht bestätigt werden. Die besonders starke Zunahme der Retikulozytenstufen III und IV während der 72-Stundenkultur (Tabelle 16) spricht für die tatsächliche Vermehrung der Retikulozyten durch die fehlende Ausschwemmung.

Im Falle 1, bei dem die Retikulozytenzunahme um 2,5% über den 72-Stundenraum unverhältnismäßig niedrig ist, könnte angenommen werden, daß die Retikulozytenzahl praktisch gleich

bleibt, weil die Retikulozyten zu Erythrozyten weiterreifen, was die Ansicht von ROHR (67) bestätigen würde.

Bei den beiden Fällen mit hämolytischer Anämie fällt auf, daß die starke Vermehrung der Retikulozyten erst am 2. oder 3. Kulturtag erfolgt, wobei an eine Verlängerung der Retikulozytendurchgangszeit bei längerer Kultivierung gedacht werden muß. Nach 24 Stunden ist zunächst ein Abfall der Retikulozytenwerte zu verzeichnen, der an eine Ausreifung eines Teiles der in Kultur gesetzten Retikulozyten oder an ihre Degeneration (SENO) (81) denken läßt. Die Frage, ob die Verweildauer im Stadium des Retikulozyten bei den verschiedenen Anämien unterschiedlich ist, läßt sich ebensowenig beantworten, wie die Frage, ob das Retikulozytenstadium während der Erythroblastenreifung obligatorisch ist, wie von SEIP (60), RIDDLE (61) und KOLLER (82) angenommen wird. In wieweit die Retikulozytenvermehrung in vitro durch die fehlende Ausschwemmung ins Blut hervorgerufen wird oder vielleicht die Retikulozytenreifung in der Koagulumkultur verzögert ist, wie die Erythroblastenentkernung (BOLL) (77), bleibt dahingestellt.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Von zwölf verschiedenen Patienten mit hypochromen, hämolytischen und perniciösen Anämien wurden Knochenmarkausstriche angefertigt und nach einer in unserem Labor entwickelten Färbemethode mit Brillantkresylblau angefärbt. Anhand der Präparate wurde die Anzahl der fünf Retikulozytenstufen nach HEILMEYER (29) im Originalausstrich, sowie deren zahlenmäßige Veränderung unter Kulturbedingungen bis zu 72 Stunden bestimmt. Zu diesem Zweck wurde die Deckglaskultur in der Modifikation nach BOLL (78) verwendet, mit einem Nährmedium, das aus Patientenplasma, Cor-Hormon^{R} und Hank'scher Lösung besteht. Die durch die Zählung erhaltenen Absolutwerte wurden zu den verschiedenen Krankheitsbildern in Bezug gesetzt.
Nach Differentialzählungen bis zu 72 Stunden in vitro wurden Retikulozyten-Reifungskurven aufgestellt sowie der G/E-Index bestimmt. Die Auswertung der Zählergebnisse ergab in allen 12 Fällen eine Vermehrung der Retikulozytenzahl während der Kulturdauer von 72 Stunden. Im Falle der hämolytischen Anämie wurden im Originalausstrich die höchsten Retikulozytenwerte gefunden, zudem wies diese Gruppe von Anämien während der 72-stündigen Reifung die stärkste Retikulozytenvermehrung auf. Reife und unreife Retikulozytenstufen waren bei allen 12 Krankheitsbildern in etwa derselben Menge vorhanden, so daß die Resultate von UNGRICHT (71) nicht bestätigt werden konnten.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. EHRLICH, P. — Über das Methylenblau und seine klinisch-bakterioskopische Verwertung. Z. f. klin. Med., Berlin, 710, (1880)

2. PLEHN, A. — zitiert nach TRACHTENBERG, F., Retikulozytenstudien, Fol. Haemat. (Lpz.) 46, 1 (1932)

3. STEPAN, P. — zitiert nach TRACHTENBERG, F., siehe Nr. 2

4. ROSIN, H. und BIBERGEIL, E. — Über die vitale Blutfärbung und deren Ergebnisse bei Erythrozyten und Blutplättchen. Z. klin. Med. 54, 197 (1904)

5. CESARIS-DEMEL, A. — Studien über die roten Blutkörperchen mit den Methoden der Färbung im frischen Zustande. Fol. Haemat. (Lpz.), 4 Suppl. - H1 (1907)

6. SCHILLING, V. — Arbeiten über die Erythrozyten, Fol. Haemat. (Lpz.), 14, 95 (1912)

7. ENGEL, H. — Über die Reifegrade der Erythrozyten im kreisenden Blut. Fol. Haemat. (Lpz.), 33, 21 (1926)

8. SEYFARTH, C. — Experimentelle und klinische Untersuchungen über die vitalfärbbaren Erythrozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 34, 7 (1927)

9. NAEGELI, O. — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 4. Aufl., 588, Verlag von J. Springer, Berlin, 1923

10. SACK, G. — Über die Zählung der Retikulozyten. Klin. Wschr., 1598 (1939 II)

11. UNDRITZ, E. Hämatologische Tafeln Sandoz. Nürnberg: Sandoz AG., Abb. 174 (1952)

12. RIVA, G. Dunkelfelduntersuchungen an Retikulozyten und basophil punktierten Erythrozyten. Schweiz. med. Wschr., 840 (1949)

13. SIERING, H. Retikulozytenzählung mit dem Phasenkontrastverfahren. Fol. Haemat. (Lpz.), 73, 1 (1956)

14. WOLPERS, C. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Innenstrukturen kernloser Erythrozyten. I. Retikulozyten und Pseudoretikulozyten. Klin. Wschr., 34, 61 (1956)

15. BESSIS, M. und BRETON-GORIUS, J. Colorations vitales et microscopie electronique. Nouv. Rev. franc. Hémat. 4, 77 (1964)

16. BRAUNSTEINER, H., FELLINGER, K. und PAKESCH, F. Über die Struktur der Retikulozyten. Acta Haemat. (Basel), 16, 322 (1956)

17. COUTELLE, R. und RAPOPORT, S. Der Einfluß von pH und Ionenmilieu auf die Aufnahme von Brillantkresylblau durch Kaninchenretikulozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 74, 191 (1957)

18. HEIMPEL, H. Erythropoese und Erythrozytenumsatz. Handbuch der Inneren Medizin, Band 2, Teil I, 517, 5. Auflage, Springer Verlag (1968)

19. LINDIGKEIT, R. Die Nucleasewirksamkeit in den Retikulozyten von Kaninchen. Fol. Haemat. (Lpz.), 74, 251 (1957)

20. SCHWEIGER, H.-G. — Proteinsynthese und Ribonucleinsäure in kernlosen Retikulozyten. Die Naturwissenschaften, 51, 521 (1964)

21. THORELL, B. — Cytochemistry of red blood cell maturation. Fol. Haemat. (Lpz.), 78, 7 (1962)

22. RIND, H. und STOBBE, H. — Über reife und unreife Retikulozyten. Fol. Haemat., NF. 1, 219 (1957)

23. RIND, H. und STOBBE, H. — Morphologische Beobachtungen an Retikulozyten mit dem Phasenkontrastverfahren. Fol. Haemat. (Lpz.), 76, 353 (1959)

24. BLOWERS, H. — zitiert nach RIND, H. und STOBBE, H. siehe Nr. 23

25. LAJTHA, L.G. — On DNA-labeling in the study of the dynamics of bone marrow cell population. In: F. Stelman (ED). The kinetics of cellular proliferation p. 173 New York: Grune and Stratten (1959)

26. HINTERBERGER, U., RAPOPORT, S., HOFMANN, E.C.G., GERISCHER-MOTHES, W. und PESCHKE, R. — Untersuchungen zum Pasteureffekt bei Retikulozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 78, 179 (1962)

27. MORAWITZ, P. — Über Oxydationsprozesse im Blut. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 60, 298, (1909)

28. WARBURG, O. — Zur Biologie der roten Blutzellen. Hoppe-Sylers, Z. physiol. Chem. 59, 112 (1909)

29. HEILMEYER, L. und WESTHÄUSER, R. — Reifungsstudien an überlebenden Retikulozyten in vitro und ihre Bedeutung für die Schätzung der tägl. Hämoglobinproduktion in vivo. Z. klin. Med. 121, 361 (1932)

30. RAPOPORT, S. — Der Atmungsstoffwechsel bei der Reifung der Erythrozyten. Aktivatoren und Hemmstoffe. Fol. Haemat. 74, 276 (1957)

31. JAGEMANN, K. und ROSENTHAL, S. — Aktivierung und Hemmung einer ribosomalen RN-ase aus Kaninchenretikulozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 83, 162 (1965)

32. SCHWEIGER, H.-G., RAPOPORT, S. und SCHÖLZEL, F. — Der N-Stoffwechsel bei der Erythrozytenreifung. Die N-Bilanz unter endogenen Bedingungen. Hoppe Sylers, Z. physiol. Chem. 313, 97 (1958)

33. HASCHEN, R.J. und GROH, F. — Heterogenität der sauren Proteinase in Kaninchenretikulozyten und -erythrozyten. Die Naturwissenschaften , 52, 37 (1965)

34. BUCHMANN, R. und RAPOPORT, S. — Das Verhalten von Glycin, Alanin und Glutamat in den Retikulozyten während kurzer Inkubationszeiten. IV. Intern. Symp. Struktur und Funktion der roten Blutkörperchen. Berlin 1964. Fol. Haemat. (Lpz.), 83, 355 (1965)

35. SCHULTZE, M., RAPOPORT, S. und SCHOLZ, I. — Die Veratmung der Aminosäuren im Retikulozyten. IV. Intern. Symp. Struktur und Funktion der roten Blutkörperchen. Berlin 1964. Fol. Haemat. (Lpz.), 83, 361 (1965)

36. WALSH, R.J., THOMAS, E.D. und CHOW, S.K. — Iron metabolism. Heme synthesis in vitro by immature erythrocytes. Science 110, 396 (1949)

37. LAJTHA, L.G. and SUIT, H.D. — Uptake of radioactive iron by nucleated red cells in vitro. Brit. J. Haemat. 1, 55 (1955)

38. AUSTONI, M.E. — Autoradiographic studies on iron-59 turnover by erythroid cells in rat bone marrow. Wien. Z. inn. Med. 35, 151 (1954)

39. BELCHER, E.H., GILBERT, J.G. and LAMERTON, J.F.
Experimental studies with radioactive iron.
Brit. J. Radiol. 27, 387 (1954)

40. LONDON, T.M., SHEMIN, D. and RITTENBERG, D.
Heme synthesis and red blood cell dynamics in normal humans and in subjects with polycythemia vera, sickle-cell anemia, and pernicious anemia.
J. biol. Chem. 179, 463 (1949)

41. BORSOOK, H., DEASEY, C.L., HAAGEN-SMIT, H.J., KEIGHLEY, G. and LOWY, P.H.
Incorporation in vitro of labeled amino acids into proteins of rabbit reticulocytes.
J. biol. Chem. 196, 669 (1952)

42. BURT, N.S., MURRAY, R.G. and ROSSITER, R.J.
Nucleic acids of rabbit reticulocytes.
Blood 6, 906 (1951)

43. HOLLOWAY, B.W. and RIPLEY, S.H.
Nucleic acid content of reticulocytes and its relation to uptake of radioactive leucine in vitro.
J. biol. Chem. 196, 695 (1952)

44. KORITZ, S. B. and CHANTRENNE, H.
The relationship of ribonucleic acid to the in vitro incorporation of radioactive glycine into the proteins of reticulocytes.
Biochim. biophys. Acta 13, 209 (1954)

45. ROST, G.
Über die Veränderungen der säurelöslichen Nucleotide und der RNS bei der Reifung von Retikulozyten in vitro.
Fol. Haemat. (Lpz.), 76, 544 (1962)

46. FICHSEL, H. und WEICKER, H.
Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten.
Fol. Haemat., NF. 4, 72 (1960)

47. LOWY, B.A., WILLIAMS, M.K. and LONDON, J.M.
Enzymatic deficiencies of purine nucleotide synthesis in the human erythrocyte.
J. biol. Chem. 237, 1622 (1962)

48. JAFFÉ, E.R., GORDON, E.E. and NEUMANN, G.
The incorporation of nicotinic acid and of nicotinamide into the pyridine nucleotides of erythrocytes and reticulocytes of rabbits in vitro.
J. clin. Invest. 42, 1017 (1963)

49. LOTZ, M. and SMITH, L.H.
The effect of reticulocytosis in the rabbit on the activities of enzymes in pyrimidine biosynthesis.
Blood 19, 593 (1962)

50. RADERECHT, H.J., BINNEVIES, S. und SCHÖLZEL, E.
Zum Mechanismus des Einbaus ^{32}P in Phosphatidfraktionen von Retikulozyten und reifen Erythrozyten.
Acta. biol. med. germ. 8, 199 (1962)

51. ARNOLD, J., PAPPENHEIM, A., DEETJEN, H. und WOLFF, A.
zitiert nach TRACHTENBERG, F., siehe Nr. 2

52. LEVADITI, C.
zitiert nach TRACHTENBERG, F., siehe Nr. 2

53. ENGEL, H.
Über die Reifegrade der Erythrozyten im kreisenden Blut.
Fol. Haemat. (Lpz.), 33, 21 (1926)

54. COHN, A.
Über die Bedeutung der vitalfärbbaren Substanzen in den Erythrozyten und ihre Beziehungen zur Sauerstoffzehrung unter Berücksichtigung der Polychromasie und Basophilie.
Klin. Wschr. 24, 1079 (1926)

55. HAENEL, U.
Beobachtungen über Achromoretikulozyten.
Schweiz. med. Wschr. 843 (1949)

56. FRIEDLÄNDER, A. and WIEDEMER, C.
The reticulocyte count in normal and in abnormal conditions.
Arch. intern. Med. 44, 209 (1929)

57. FRANKE, K. — Retikulozytenzählung in der Zählkammer. Med. Klin. 27, 431 (1931)

58. LANGENDORFF, H. und REISSNER, A. — Untersuchungen über den Normalwert der Retikulozyten beim Menschen. Fol. Haemat. (Lpz.), 55, 88 (1936)

59. BERLIN, R. — Estimation of the lifespan of erythrocytes by determination of the reticulocyte maturation time in vivo. Scand. J. clin. Lab. Invest. 2, 37 (1950)

60. SEIP, M. — Reticulocyte studies. Acta. med. scand. Suppl., 282 (1953)

61. RIDDLE, M.C. — Pernicious anemia. Blood regeneration during early remission. Arch. intern. Med. 46, 417 (1930)

62. NIZET, A. — Une nouvelle technique pour l'étude des reticulocytes. Acta. biol. belg. 1, 402 (1941)

63. NIVEN, J.S.F. und NEUBERGER, A. — Hemoglobin synthesis in rabbits. J. Physiol. (London) 112, 292 (1951)

64. RIND, H. — Kinetik der Erythroblastenentkernung. Fol. Haemat. (Lpz.), 74, 262 (1957)

65. FORSSELL, J. — Morphologische Veränderungen in Blut und Knochenmark bei akuten Blutungsanämien. Acta. med. scand. Suppl., 101 (1939)

66. JONES, P.E.H. and Mc CANCE, R.A. — Enzyme activities in the blood of infants and adults. Biochem. J. 45, 464 (1949)

67. ROHR, K. — Das menschliche Knochenmark. 3. Auflage, 49 Georg-Thieme Verlag, Stuttgart, 1960

68. GAWRILOW, R. — Zur Lehre über die vitalfärbbare Substanz der Erythrozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 38, 216 (1929)

69. HEATH, C.W. and DALAND, G.A. — The life of reticulocytes. Arch. intern. Med. 46, 533 (1930)

70. FICHSEL, H. — Der Umfang des Hämoglobinisierungsprozesses im Retikulozyten. Z. f . d. ges. exp. Med. 132, 18 (1959)

71. UNGRICHT, M. — Die Wechselbeziehungen der menschlichen Retikulozyten im Knochenmark und im peripheren Blut. Fol. Haemat. (Lpz.), 60, 145 (1938)

72. JUNG, F., RIND, H. und STOBBE, H. — Über Retikulozyten. Fol. Haemat. (Lpz.), 75, 295 (1958)

73. BALDINI, M. und PANACCIULI, I. — The maturation rate of reticulocytes. Blood 15, Bd. II, 614 (1960)

74. NINNI, M. — I reticolociti. Morfologia, fisiologia, clinica. Pavia: Tipografia des libro (1949)

75. RAPOPORT, S.M. und STRASSNER, W. — Das Verschwinden der Substantia reticulo-filamentosa bei Versuchen in vitro. Fol. Haemat. (Lpz.), 76, 322 (1959)

76. PLUM, C.M. — A reticulocyte ripening principle. Acta. physiol. scand. 4, 259 (1942)

77. BOLL, I. und MERSCH, G. — Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. Blut XVII, 193 (1968)

78. BOLL, I. und FUCHS, G. — Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro. Blut VII, 257 (1961)

79. ROMEIS, B. — Mikroskopische Technik. 15. Auflage, 308 Verlag München-Oldenburg, 1948

80. ASTALDI, G. und TOLENTINO, P. — Studies in vitro on the maturation of erythroblasts in normal and pathological conditions. J. clin. Path. 2, 217 (1949)

81. SENO, S. — Die Struktur der Retikulozyten. Handbuch der gesamten Hämatologie, Bd. 1, Teil 1, 229, Okayama/Japan, herausgegeben: Heilmeyer, L. und Hittmair, A. Verlag Urban&Schwarzenberg, München - Berlin - Wien, 1957

82. KOLLER, F. — zitiert nach BORCHERS, H.G. und OEFELEIN, G. Über Retikulozytenprobleme. Med. Mschr., 14, 797 (1960)

Für das Thema, die guten Arbeitsmöglichkeiten sowie das fördernde und kritische Interesse möchte ich an dieser Stelle Frau Professor Dr. med. Irene Boll meinen herzlichen Dank aussprechen.

Herrn Dr. med. A. Beissel möchte ich ebenfalls für seine Hilfe danken.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD.

L E B E N S L A U F

Am 26.3.1943 wurde ich als Tochter des Friseurmeisters Martin Regensburger und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Mättig, in Berlin-Charlottenburg geboren. Nach dem Besuch der Volksschule (1949 - 1953) und des Städtischen Gymnasiums (1953 - 1962) in Giengen/Brenz war ich ein Semester an der Hochschule für Wirtschafts- und Sozialwissenschaften in Nürnberg immatrikuliert. Im Wintersemester 1962/63 begann ich an der Landgraf-Philipps-Universität in Marburg/Lahn mit dem Studium der Zahnmedizin und machte dort nach fünf Semestern das Physikum. Seit dem 2. klinischen Semester (1965/66) habe ich an der Freien Universität Berlin studiert, wo ich im März 1968 die zahnärztliche Prüfung bestand.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33